Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Ruhr-Universität Bochum

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN MECHANISMUS DER INTESTINALEN RESORPTION VON FOLSÄURE UND SEINE BEEINFLUSSUNG DURCH PHENOBARBITAL

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften
der Abteilung für Biologie
an der Ruhr-Universität Bochum

vorgelegt von

GERHARD STRUGALA

1981

Bochum 1980

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Ruhr-Universität Bochum

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN MECHANISMUS DER INTESTINALEN RESORPTION VON FOLSÄURE UND SEINE BEEINFLUSSUNG DURCH PHENOBARBITAL

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften
der Abteilung für Biologie
an der Ruhr-Universität Bochum

vorgelegt von

GERHARD STRUGALA

Bochum 1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

1. Referent: Prof. Dr. Ch. Lüttgau
2. Referent: Prof. Dr. W. Forth
Prodekan : Prof. Dr. H. Langer
Tag der mündlichen Prüfung: 13.3.1981

VORWORT

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmakologie und Toxikologie unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. W. Forth (z.Z. Vorstand des Institutes für Pharmakologie und Toxikologie der Universität München) nach Abstimmung mit Herrn Prof. Dr. Ch. Lüttgau, Institut für Zellphysiologie der Abteilung für Biologie der Ruhr-Universität Bochum angefertigt.

Herrn Prof. Dr. W. Forth danke ich für die Überlassung des Themas, für seine wertvollen Ratschläge und für die anregenden Diskussionen über diese Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Ch. Lüttgau danke ich für seine wohlwollende Unterstützung der vorliegenden Arbeit.

Herrn Dr. Overhoff und Herrn Dr. Femfert danke ich für nützliche Diskussionen und Anregungen bei der Abfassung der Arbeit.

Herrn Boldt danke ich für seine Mitarbeit bei der Durchführung der Experimente.

INHALT

		Seite
1.	ZUSAMMENFASSUNG	1
2.	EINLEITUNG	6
3.	ERGEBNISSE	7
3.1	Untersuchungen zum Translokationsmechanismus von ^{3}H- Folsäure durch die Darmwand in vitro	7
3.1.1	Transfer durch die Darmwand und Gehalt von ^{3}H-Folsäure im Darmgewebe	7
3.1.1.1	Transfer durch die Darmwand	8
3.1.1.2	Gehalt im Gewebe	8
3.1.2	Transfer durch die Darmwand und Gehalt von ^{3}H-Folsäure im Darmgewebe in Abhängigkeit von der Konzentration	1o
3.1.2.1	Transfer durch die Darmwand und Gehalt von ^{3}H-Folsäure im Darmgewebe am isoliert durchströmten Duodenum, Jejunum und Ileum	1o
3.1.2.2	Transfer und Gehalt im Gewebe am evertierten und nicht evertierten Jejunum	12
3.1.2.3	Sättigungskinetik am Jejunum	14
3.1.2.4	Lineartransformation des Sättigungtransfers von ^{3}H-Folsäure durch die Darmwand	14
3.1.3	Zeitlicher Verlauf des Transfers durch die Darmwand und der Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Darmgewebe	17

Seite

3.1.3.1	Transfer durch die Darmwand und Gehalt im Darmgewebe	17
3.1.3.2	G/M- Quotient; S/M- Quotient	17
3.1.4	Transfer durch die Darmwand und Gehalt von ^{3}H-Folsäure im Darmgewebe in Abhängigkeit von der Temperatur	21
3.1.4.1	Transfer durch die Darmwand	21
3.1.4.2	Gehalt im Darmgewebe	23
3.1.4.3	Netto-Verschiebung von ^{3}H- Folsäure im Konzentrations-Gleichgewicht	23
3.1.4.4	Arrhenius-Diagramme der Temperaturabhängigkeit des Transfers sowie der Aufnahme von ^{3}H-Folsäure ins Darmgewebe	25
3.1.4.4.1	Arrhenius-Diagramm des Transfers von M → S bzw. S → M	25
3.1.4.4.2	Arrhenius-Diagramm der Aufnahme von M → S bzw. S → M	25
3.1.5	Transfer durch die Darmwand und Gehalt von ^{3}H-Folsäure im Darmgewebe in Gegenwart von Salazosulfapyridin	27
3.1.5.1	Transfer und Gehalt im Darmgewebe am Jejunum	27
3.1.5.2	Transfer und Gehalt im Darmgewebe am Colon	29
3.1.5.3	Netto-Verschiebung von ^{3}H- Folsäure im Konzentrationsgleichgewicht am Jejunum	3o
3.1.5.4	Netto-Verschiebung von ^{3}H- Folsäure im Konzentrationsgleichgewicht am Colon	3o
3.2	Untersuchungen zum Einfluß von Phenobarbital auf die Resorption von Folsäure in vitro	32
3.2.1	Transfer durch die Darmwand und Gehalt im Gewebe in Gegenwart von Phenobarbital	32
3.2.1.1	Transfer durch die Darmwand und Gehalt im Gewebe am Jejunum	32

Seite

3.2.1.2	Transfer durch die Darmwand und Gehalt von ^{3}H-Folsäure im Darmgewebe am Colon	34
3.2.2	Vergleich des ^{3}H- Folsäure- und Glucose-Transfers durch die Darmwand in Abhängigkeit von der Phenobarbital-Konzentration	34
	4. DISKUSSION	39
4.1	Welche Rückschlüsse können aufgrund der in vitro Untersuchungen auf den Mechanismus des Folsäure-Transfers durch die Darmwand gezogen werden ?	39
4.1.1	Methodisch-kritische Vorbemerkungen	39
4.1.2	Translokationsmechanismus für Folsäure	41
4.1.2.1	Zur Konzentrationsabhängigkeit	42
4.1.2.2	Zur Temperaturabhängigkeit	44
4.1.2.3	Zur Hemmung des Folsäure-Transfers durch Salazosulfapyridin	45
4.1.2.4	Schlußfolgerungen zum Translokations-Mechanismus für Folsäure	46
4.2	In welchen Abschnitten des Darmtraktes findet die Resorption von Folsäure statt ?	47
4.2.1	Allgemeine Vorbemerkungen	47
4.2.2	Orte der Folsäure-Resorption	49
4.3	Welche Rückschlüsse können bezüglich des Mechanismus eines Phenobarbital-induzierten Folsäure-Mangels gezogen werden?	5o
4.3.1	Einfluß von Phenobarbital auf den Transfer durch die Darmwand und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Darmgewebe	5o
4.3.2	Einfluß von Phenobarbital auf den Glucose- und Wasser-Transport durch die Darmwand	52

4.3.3	Schlußfolgerungen	52
	5. MATERIAL UND METHODEN	
5.1	Material	54
5.1.1	Versuchstiere	54
5.1.2	Substanzen	54
5.1.2.1	Pteroylmonoglutaminsäure (Folsäure)	54
5.1.2.2	Phenobarbital	55
5.1.2.3	Diphenylhydantoin	55
5.1.2.4	Salazosulfapyridin	56
5.1.2.5	Guar Gum	56
5.2	Untersuchungsmethoden zur Resorption von ^{3}H-Folsäure	56
5.2.1	Inkubation isolierter, nicht durchbluteter Darmsegmente nach der Methode von Wilson und Wiseman	56
5.2.1.1	Inkubationsmedium	57
5.2.1.2	Aufarbeitung der Darmsegmente	59
5.2.2	Durchströmung isolierter, nicht durchbluteter Darmsegmente nach der Methode von Fisher und Parsons	59
5.2.3	Beurteilung der Leistungsfähigkeit isolierter, nicht durchbluteter Darmsegmente in vitro	61
5.2.3.1	Isoliert durchströmte Darmsegmente nach der Methode von Fisher und Parsons	61
5.2.3.2	Evertierte und nicht evertierte Darmsegmente nach der Methode von Wilson und Wiseman	62

5.2.3.3	Wasser- und Glucose-Transport in Gegenwart von Phenobarbital	62
5.2.3.4	Wasser- und Glucose-Resorption nach chronischer Verabreichung von Phenobarbital und Diphenylhydantoin	63
5.3	Analytische Methoden	64
5.3.1	Glucosebestimmung	64
5.3.2	Elektrolytbestimmung	64
5.3.3	pH- Wert Bestimmung	64
5.3.4	Messung der ^3H- Radioaktivität	64
5.3.5	Dünnschichtchromatographische Untersuchungen	65
5.3.6	Statistische Methoden	65
	6. LITERATURVERZEICHNIS	
	7. TABELLENANHANG	

KAPITEL 1. ZUSAMMENFASSUNG

a) Die Untersuchungen zum Translokationsmechanismus von ^{3}H- Folsäure durch die Darmwand wurden an isoliert durchströmten sowie an evertierten und nicht evertierten Darmsegmenten (Duodenum, Jejunum, Ileum, Colon) der Ratte in vitro durchgeführt.

b) Die Untersuchungen des Transfers durch die Darmwand und des Gehaltes von ^{3}H- Folsäure im Darmgewebe haben ergeben, daß Folsäure am gesamten Dünndarm, insbesondere am proximalen Jejunum, bevorzugt von der Mucosa- zur Serosaseite bewegt wird. Demgegenüber beobachtet man am Dickdarm einen bevorzugten Folsäure-Transfer in die entgegengesetzte Richtung im Sinne einer Sekretion von der Serosa- zur Mucosaseite.
Entsprechend der hohen Transportkapazität des oberen Jejunum, war hier auch der Gehalt im Gewebe von M → S deutlich stärker ausgeprägt als bei den übrigen untersuchten Darmabschnitten. Dagegen war der Gehalt an ^{3}H- Folsäure im Gewebe bei einem Folsäure-Angebot auf der Serosaseite bei allen geprüften Darmsegmenten gleich, aber im Ileum und Colon höher als von der Mucosaseite aus.

c) Orientierende dünnschichtchromatographische Untersuchungen zeigten, daß im Schnitt 98% der angebotenen ^{3}H- Radioaktivität nach Passage der verschiedenen Darmabschnitte (Duodenum, Jejunum, Ileum) als unveränderte Folsäure identifiziert werden konnte. Eine Korrektur der Ergebnisse des Durchtritts der Folsäure durch die Darmwand und des Gehaltes im Gewebe, die aufgrund der ^{3}H-Radioaktivität ermittelt wurden, erübrigte sich daher.

d) Die Konzentrationsabhängigkeit des Transfers von ^{3}H-Folsäure durch die Darmwand und Gehaltes im Gewebe wurde an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Duodenum-, Jejunum- und Ileumsegmenten von M → S in einem Konzentrationsbereich von $2 \times 10^{-9} - 10^{-3}$ mol/l geprüft.

Dabei hat sich gezeigt, daß der Durchtritt durch die Darmwand und der Gehalt im Gewebe, insbesondere am proximalen Jejunum, weniger am Duodenum, konzentrationsabhängig verläuft, während der Transfer und Gehalt im

Gewebe am terminalen Ileum unabhängig von der Angebotskonzentration ist.
Die Prüfung der Konzentrationsabhängigkeit des Transfers und Gehaltes von ^{3}H- Folsäure im Gewebe in beiden Richtungen, d.h. von M → S bzw. S → M wurde am proximalen Jejunum an evertierten (M → S) und nicht evertierten (S → M) Segmenten in einem Bereich von $2 \times 10^{-9} - 10^{-4}$mol/l untersucht.
Während der Transfer durch das Mucosaepithel und der Gehalt im Gewebe von M → S konzentrationsabhängig verläuft, d.h. die prozentuale Transportrate und Gehalt im Gewebe mit steigenden Angebots-Konzentrationen abnimmt, ist der Transfer und Gehalt im Gewebe von S → M nahezu unabhängig von der Konzentration.
Zur Beurteilung der Transportkinetik wurde die Konzentrationsabhängigkeit am evertierten Jejunum (M → S) in einem engeren Konzentrationsbereich von $10^{-6} - 10^{-4}$mol/l geprüft.
Dabei zeigte sich, daß die transportierte Menge an ^{3}H-Folsäure pro cm u. min mit steigenden Folsäure-Konzentrationen gegen einen Grenzwert konvergiert.
Die maximale Transportgeschwindigkeit V_T beträgt $3,2 \times 10^{-8}$mol/(cm x min); die Halbsättigungskonstante $\left[S_{0,5}\right] = 4,9 \times 10^{-5}$mol/l.

e) Der zeitliche Verlauf des Durchtritts durch die Darmwand sowie die Aufnahme ins Darmgewebe wurde an evertierten (M → S) Duodenum-, Jejunum- und Ileumsegmenten zwischen 2 und 120 min geprüft.
Der Durchtritt durch die Darmwand sowie die Aufnahme ins Gewebe steigt bei allen geprüften Darmabschnitten linear mit der Versuchszeit an.
Der Vergleich der Konzentration auf der Basis der ^{3}H-Aktivität Ipm pro g Darmfeuchtgewicht / Ipm pro ml Mucosaflüssigkeit (G/M-Quotient) zeigt, daß in erster Linie das Jejunum die Fähigkeit besitzt, innerhalb von 120 min Versuchsdauer, Folsäure gegen einen Konzentrationsgradienten im Darmgewebe anzureichern; während am terminalen Ileum gerade ein Konzentrationsausgleich zwischen dem Gewebs- und Angebotskompartiment hergestellt wird.
Vergleicht man die ^{3}H- Folsäure-Konzentration auf der Serosa- und Mucosaseite (S/M-Quotient), fällt auf, daß der S/M-Quotient bei allen untersuchten Darmabschnitten < 1 ist. Demzufolge ist der Durchtritt der Folsäure zur Serosaseite ein langsamer Vorgang.

f) Die Prüfung der Temperaturabhängigkeit des Transfers und des Gehaltes von ^{3}H- Folsäure im Gewebe wurde an evertierten (M → S) und nicht evertierten (S → M) Jejunumsegmenten bei 37°C, 25°C, 15°C und 7°C durchgeführt.
Durch Herabsetzen der Temperatur von 37°C (Kontrollversuche) auf niedrigere Inkubationstemperaturen, findet eine schrittweise Senkung des Transfers und Gehaltes von ^{3}H- Folsäure im Gewebe von M → S statt.
Demgegenüber wird bei einem ^{3}H- Folsäure-Angebot auf der Serosaseite lediglich der Transfer von S → M beeinträchtigt, während die Anreicherung von Folsäure im Darmgewebe von der Serosaseite aus offensichtlich unabhängig von der Temperatur verläuft.

g) Der Einfluß von Salazosulfapyridin, einem Hemmstoff der Folsäure-Resorption in vitro und in vivo, auf den Transfer durch die Darmwand und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Gewebe wurde an evertierten (M → S) und nicht evertierten (S → M) Jejunumsegmenten geprüft. Dazu wurde Salazosulfapyridin in verschiedenen Konzentrationen (2,5 mg/l ≙ 6,3 x 10^{-6}mol/l; 25,0 mg/l ≙ 6,3 x 10^{-5}mol/l; 250,0 mg/l ≙ 6,3 x 10^{-4}mol/l) eingesetzt.
Der Transfer und Gehalt von Folsäure im Gewebe ist in Gegenwart der höchsten geprüften Salazosulfapyridin-Konzentration von 6,3 x 10^{-4}mol/l von der Mucosa- zur Serosaseite statistisch signifikant vermindert. Demgegenüber hat Salazosulfapyridin keinen Einfluß auf den Transfer und Gehalt von Folsäure im Gewebe von der Serosa- zur Mucosaseite.

h) Aufgrund der vorliegenden Resultate kann festgestellt werden, daß es sich beim Translokationsvorgang von Folsäure durch die Darmwand am proximalen Jejunum mit hoher Wahrscheinlichkeit um einen aktiven, durch Carrier vermittelten Transportprozeß handelt. Hierbei ist zu trennen zwischen dem Gehalt im Gewebe, der etwas über den Vorgang der Aufnahme ins Gewebe aussagt, und dem Transfer durch das Mucosaepithel, in dem auch die Abgabe zur Serosaseite enthalten ist. Während im vorliegenden Falle die Aufnahme ins Gewebe abhängig von der Stoffwechselenergie verläuft, erfolgt die Abgabe zur Serosaseite unabhängig vom Stoffwechsel. Für das terminale Ileum bzw. Colon ascendens gibt es keine Anzeichen für ein akkumulierendes Transportsystem, d.h. der Transfer durch die Darmwand erfolgt in diesen Abschnitten des Darmtraktes per diffusionem.

i) Der Einfluß von Phenobarbital auf den Transfer durch die Darmwand und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Gewebe wurde an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Jejunumsegmenten sowie an evertierten (M → S) und nicht evertierten (S → M) Jejunum- und Colonsegmenten untersucht.
Am proximalen Jejunum zeichnet sich eine Zweiphasenwirkung von Phenobarbital auf die Resorption von Folsäure durch die Darmwand von M → S ab; d.h. 1. Abfall zwischen Kontrollen und niedrigen Phenobarbital-Konzentrationen auf etwa das gleiche Niveau wie bei Temperatursenkung auf 25°C und 2. Abfall bei hohen Konzentrationen nach Null tendierend.
Am Colon ascendens hat Phenobarbital keinerlei Einfluß auf den Transfer und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Gewebe von M → S bzw. S → M.

j) Der Glucose- und Wasser-Transport durch die Darmwand von M → S wird durch Phenobarbital verändert.
Während 10^{-4}mol/l Phenobarbital zu einer signifikanten Erhöhung des Glucose-Transfers am oberen Jejunum bei 37°C und 25°C führt, bewirken hohe Konzentrationen (10^{-2}mol/l) eine drastische Verringerung des Glucose- und Flüssigkeitstransportes von M → S.

KAPITEL 2. EINLEITUNG

In der Literatur sind die Ansichten über den Mechanismus des Transportes der Folsäure (Pteroylmonoglutaminsäure) durch die Darmwand kontrovers. Als mögliche Mechanismen für den Durchtritt von Folsäure durch die Darmwand von der Mucosa- zur Serosaseite werden entweder reine, von der Diffusion kontrollierte Prozesse (9, 10, 11, 27, 54, 76, 77, 78, 79, 81, 83, 89) oder aber spezifische, durch Carrier vermittelte Transportsysteme diskutiert (8, 14, 22, 23, 38, 43, 44, 48, 68, 69, 72).

Klarheit über diese Frage zu erlangen, ist nicht nur ein Gebot der biologischen Wissenschaften, es ist auch von praktischer Bedeutung. Seit 1962 (Druskin et al.) gibt es in der Literatur Berichte, die in der Zwischenzeit vielfach bestätigt worden sind. (4, 5, 6, 16, 20, 25, 34, 35, 36, 37, 41, 46, 50, 56, 57, 60, 62, 63, 64, 65, 66, 70, 71, 73, 80, 82, 84), daß in der Folge einer Arzneistofftherapie bei Epileptikern typische Zeichen des Folsäuremangels auftreten können. Dies ist für Diphenylhydantoin und Primidon (20, 25, 26, 34, 35, 36, 37, 46, 50, 56, 57, 60, 70, 71, 80), aber auch für Pheno- und Methobarbital (26,80) berichtet worden. Die zunächst erwogene Interpretation, daß die in der Nahrung als Oligoglutaminylpeptid vorliegende Folsäure erst durch mucosale Exopeptidasen in die Monoglutaminsäureverbindung überführt werden muß, ehe sie resorbiert werden kann, hat insofern nur teilweise überzeugt, als unseres Wissens nie der Nachweis geführt worden ist, daß die Abspaltung der Glutaminyl-Reste nur durch die mucosale Exopeptidase vorgenommen werden und beispielsweise nicht auch durch die wenig spezifischen Pankreas-Peptidasen katalysiert werden kann. Überdies muß angemerkt werden, daß die Folsäurekonjugase, wie das Enzym allgemein genannt wird, das die Oligoglutaminylverbindung der Folsäure spaltet, eine weite Verbreitung hat und auch in der Magenschleimhaut nachgewiesen wurde (39,47). Deshalb blieb die Frage offen, ob durch Antiepileptika, wie beispielsweise Phenobarbital, nicht auch der Resorptionsmechanismus der Folsäure selbst beeinträchtigt wird. Wenn die Folsäureresorption nur ein diffusiver Vorgang wäre, wäre es nur schwer vorstellbar, wie eine Malabsorption des Vitamins ohne erkennbare histologische

Veränderungen der Darmschleimhaut entsteht.

Ziel der vorgelegten Arbeit war es deshalb, einen Beitrag zur Entscheidung der Frage zu liefern, ob der intestinale Folsäuretransport ein rein diffusiver Vorgang ist oder ob ein möglicherweise vom Zellstoffwechsel abhängiger Transportvorgang für das Vitamin existiert. Außerdem sollte die Frage geklärt werden, in welchen Abschnitten des Dünndarms die Folsäure präferentiell resorbiert wird. Zur Wahrung übersichtlicher Verhältnisse wurden die Untersuchungen in vitro, d.h. an künstlich durchströmten, nicht durchbluteten Segmenten sowie an evertierten und nicht evertierten Darmsegmenten des Duodenums, Jejunums und des Ileums sowie des Colons von Ratten durchgeführt. Durch die Wahl der in vitro-Methode, die teils als künstlich durchströmtes Darmpräparat nach Fisher und Parsons (28), teils als evertiertes bzw. nicht evertiertes Darmpräparat in Anlehnung an die von Wilson und Wiseman (88) beschriebene Methode präpariert wurden, ist gewährleistet, daß die Resultate nicht durch Nahrungsbestandteile im Darmlumen, Änderung der Motorik und der dadurch bedingten Propulsion des Darminhaltes sowie von Faktoren beeinträchtigt werden, die die Durchblutung der Darmsegmente verändern. Zur näheren Charakterisierung des Transfervorgangs für die Folsäure wurde der Durchtritt durch das Mucosaepithel von der Mucosa- zur Serosaseite (M → S) und in der umgekehrten Richtung (S → M) sowie die Aufnahme der Folsäure ins Darmgewebe in Abhängigkeit von der Zeit und der angebotenen Folsäurekonzentration geprüft. Zur Untersuchung der Frage, ob der Folsäuretransfervorgang vom Zellstoffwechsel abhängt, wurde Transfer und Gehalt der Folsäure im Darmgewebe nach Inkubation der Darmsegmente bei verschiedenen Temperaturen geprüft. Schließlich wurde der Transfer und Gehalt von Folsäure im Gewebe unter dem Einfluß von Salazosulfapyridin, einem Hemmstoff des Folsäuretransportes (23,33,39,69,75) gemessen. Als antikonvulsiver Arzneistoff wurde Phenobarbital ausgewählt, das Diphenylhydantoin gegenüber den Vorzug hat, wasserlöslich und damit besser dosierbar zu sein. Zur Charakterisierung der Auswirkung von Phenobarbital auf bekannte physiologische Transportprozesse wurde die Wasserresorption und der Transfer von Glucose gegen einen Konzentrationsgradienten (Bergauf-Transport) herangezogen.

KAPITEL 3. ERGEBNISSE

3.1 Untersuchungen zum Translokationsmechanismus von ^{3}H- Folsäure durch die Darmwand in vitro

3.1.1 Transfer durch die Darmwand und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Darmgewebe

Zur Überprüfung der Richtung des Transportes von ^{3}H- Folsäure wurden evertierte und nicht evertierte Duodenum-, Jejunum-, Ileum- und Colonsegmente nach der Methode von Wilson und Wiseman (88) herangezogen. Dabei wurde ^{3}H- markierte Folsäure in einer Konzentration von 2×10^{-9}mol/l der Außenlösung zugesetzt.

Diese Konzentration entspricht derjenigen, die physiologischerweise im Nahrungsbrei vorhanden ist (24).

Erläuternd zur Methode (Kap.5) sei nochmals erwähnt, daß bei evertierten Darmpräparaten ^{3}H-Folsäure auf der nach außen zeigenden Mucosaseite angeboten wurde, um den Transfer des Stoffes in Resorptionsrichtung (M → S) zur Serosaseite hin zu bestimmen, während bei nicht evertierten Darmabschnitten ^{3}H- Aktivität auf der nach außen gerichteten Serosaseite zugesetzt wurde, um den Transfer in umgekehrter Richtung, in Sekretionsrichtung (S → M) zur Mucosaseite hin zu verfolgen. Berechnet man die Differenz aus der von M → S bzw. S → M transportierten Menge an ^{3}H- Folsäure, ergibt sich entsprechend der bevorzugten Transportrichtung eine "Netto-Transfer-Menge"in die eine bzw. andere Richtung.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tab. II zusammengefaßt und in Abb. 1 graphisch dargestellt.

3.1.1.1 Transfer durch die Darmwand

Bietet man ^{3}H- Folsäure auf der Mucosaseite der verschiedenen Abschnitte des Darmtraktes an und bestimmt anschließend die zur Serosaseite transportierte Menge an ^{3}H- Aktivität pro g Feuchtgewicht (Resorption), dann wird deutlich, daß die im oberen Jejunum zur Serosaseite beförderte Menge an Folsäure deutlich höher liegt als in den anderen drei geprüften Darmabschnitten. Die transportierte Menge an ^{3}H- Folsäure ist am Jejunum etwa doppelt so hoch wie am Duodenum, ca 1,6 mal höher als am Ileum sowie rund 20 mal höher als am Colon. Betrachtet man hingegen die Bewegung der Folsäure von der Serosa- zur Mucosaseite, d.h. in Richtung der Sekretion, so zeigt sich, daß die zur Mucosaseite transportierte Menge an ^{3}H- Folsäure in den drei geprüften Dünndarmabschnitten bedeutend niedriger ist als in der entgegengesetzten Richtung. Am Jejunum beträgt die zur Mucosaseite transportierte Menge etwa 1/3, am Ileum knapp die Hälfte sowie am Duodenum ca. 1/8 derjenigen Menge, die vom jeweiligen Darmabschnitt in entgegengesetzter Richtung transferriert wird. Lediglich am Colon ascendens findet man einen bevorzugten Transport der Folsäure zur Mucosaseite. Sie übersteigt die zur Blutseite transportierte Menge um das 1,5- fache.

3.1.1.2 Gehalt im Gewebe

Neben dem Transfer wurde gleichzeitig auch der Gehalt an ^{3}H- Folsäure im Gewebe der vier genannten Darmabschnitte untersucht. Vergleicht man den ^{3}H-Folsäure-Gehalt pro Gramm Feuchtgewicht der verschiedenen Darmabschnitte miteinander, dann wird deutlich, daß der ^{3}H- Folsäure-Gehalt im Gewebe nach mucosalem Angebot am Jejunum, dem Darmabschnitt mit der höchsten Transferaktivität, rund 1,5 mal höher als am Duodenum und ca. 3,5 bzw. ca. 10 mal höher als am Ileum bzw. Colon. Demgegenüber ist der Gehalt im Gewebe bei einem Angebot von ^{3}H-Folsäure auf der Serosaseite bei allen untersuchten Darmsegmenten gleich ; aber am Ileum und Colon größer als von der Mucosaseite aus.

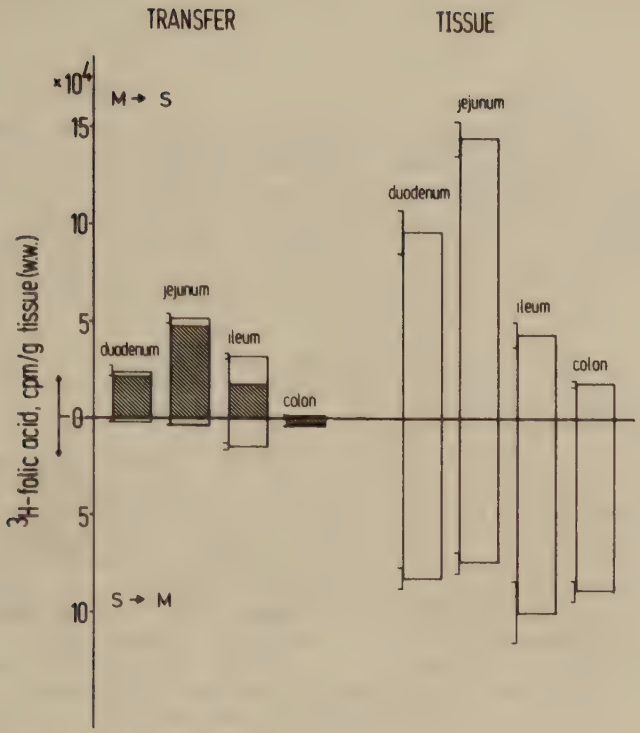

Abb. 1
Transfer und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Gewebe an evertierten und nicht evertierten Duodenum-, Jejunum-, Ileum- und Colonsegmenten

Methode: Wilson und Wiseman (88);
Versuchsdauer 120 min; Temperatur: 37°C.

^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn entweder der Außenlösung (M → S) oder der Innenlösung (S → M) in einer Konzentration von 2×10^{-9} mol/l (≙ 42200 Ipm/ml) zugegeben.
Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 6 - 9 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) (s.Tab. II im Anhang).
Der schraffierte Teil der Säulen repräsentiert den Netto-Transfer der verschiedenen Darmabschnitte.
Auf der Ordinate ist die transportierte Menge an ^{3}H- Folsäure-Aktivität bzw. der Gehalt an ^{3}H-Folsäure im Gewebe in Ipm/g Darmfeuchtgewicht angegeben.

Die Resultate dieser Untersuchungsreihe besagen, daß ^{3}H- Folsäure am gesamten Dünndarm, insbesondere am proximalen Jejunum, bevorzugt von der Mucosa- zur Serosaseite akkumuliert und transferriert wird. Dagegen beobachtet man am Dickdarm einen bevorzugten Folsäure-Transfer in entgegengesetzter Richtung, d.h. von der Serosa- zur Mucosaseite.

3.1.2 Transfer durch die Darmwand und Gehalt von ^{3}H-Folsäure im Darmgewebe in Abhängigkeit von der Konzentration

Die Prüfung des Durchtritts durch die Darmwand sowie der Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Gewebe wurde in Abhängigkeit von steigenden Folsäure-Konzentrationen an isolierten, nicht durchbluteten Darmsegmenten (Duodenum, Jejunum, Ileum) nach der Methode von Fisher und Parsons (28) in einem Konzentrationsbereich von 2×10^{-9} - 10^{-3} mol/l vorgenommen. ^{3}H- Folsäure wurde bei dieser Versuchsanordnung nur auf der Mucosaseite der Darmsegmente angeboten. Die Perfusionsdauer betrug 120 min, die Inkubationstemperatur 37°C. Das Ergebnis dieser Untersuchung ist in Tab. III zusammengefaßt und in Abb. 2 graphisch dargestellt.

3.1.2.1 Transfer durch die Darmwand und Gehalt von ^{3}H-Folsäure im Darmgewebe am isoliert durchströmten Duodenum, Jejunum und Ileum

Der Transfer von ^{3}H- Folsäure nimmt mit steigender Konzentration am Jejunum wie auch am Duodenum annähernd linear ab; während der Transfer von ^{3}H-Folsäure am Ileum dagegen offensichtlich unabhängig von der Angebotskonzentration verläuft. Bei der niedrigsten geprüften Angebotskonzentration von 2×10^{-9} mol/l, ist die transportierte Menge an ^{3}H-Folsäure pro g Feuchtgewicht am Jejunum mit 4,3% des Angebotes am höchsten und etwa 2,4 mal höher als am Duodenum und rund 7,4 mal höher als am Ileum. Mit steigender Konzentration ergibt sich eine allmähliche Annäherung der drei Kurven, so daß bei einer Angebotskonzentration von 10^{-3} mol/l keine nennenswerten Unterschiede mehr zwischen den geprüften Darmabschnitten zu beobachten sind.

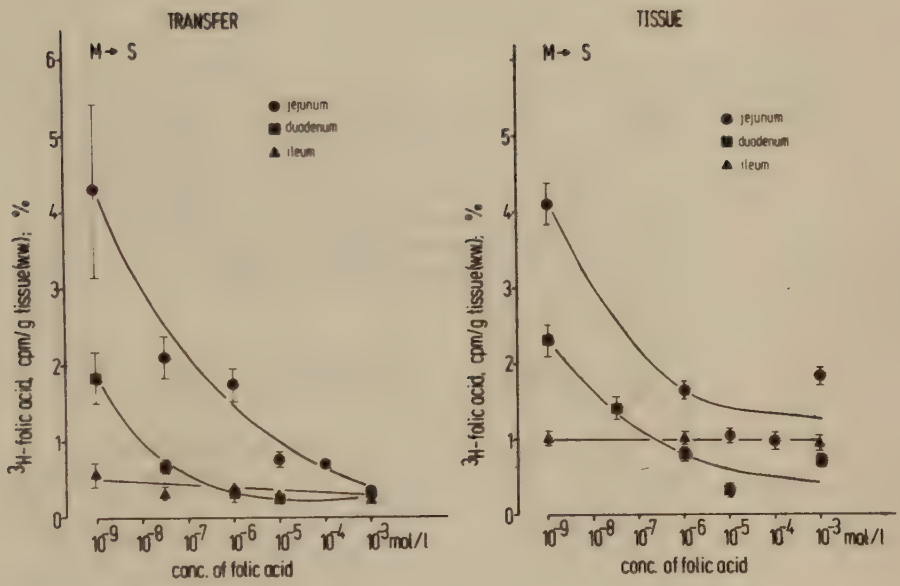

Abb. 2
Transfer und Gehalt von ^{3}H- Folsäure an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Duodenum-, Jejunum-, und Ileumsegmenten in Abhängigkeit von der Konzentration

Methode: Fisher und Parsons (28), modifiziert durch Rummel und Stupp (74); Perfusionsdauer: 120 min; Temperatur: 37°C.

^{3}H- Folsäure-Aktivität wurde zu Versuchsbeginn der Perfusionslösung in einer Konzentration von 2 x 10^{-9}mol/l ($\hat{=}$ 42200 Ipm/ml) zugesetzt.
Die Meßpunkte entsprechen Mittelwerten aus 6 - 22 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) (s.Tab. III im Anhang).
Linke Ordinate: Transfer; transportierte Menge an ^{3}H- Folsäure in Ipm/g Darmfeuchtgewicht in Prozent des Angebotes.
Rechte Ordinate: Gehalt im Darmgewebe; Ipm/g Darmfeuchgewicht in Prozent des Angebotes.
Abszisse: Folsäure-Konzentrationen.

Untersucht man gleichzeitig den Gehalt an ^{3}H-Folsäure im Gewebe, ergibt sich ein ähnliches Bild der Kurvenläufe wie beim Transfer; auch hier sinkt mit steigender Folsäure-Konzentration der Gehalt an ^{3}H- Folsäure im Gewebe ab. Das gilt für das Jejunum und Duodenum, während am Ileum die Aufnahme von ^{3}H-Folsäure ins Darmgewebe nahezu unabhängig von der angebotenen Folsäure-Konzentration verläuft (Abb.2).

3.1.2.2 Transfer und Gehalt im Gewebe am evertierten und nicht evertierten Jejunum

Zur Untersuchung der Konzentrationsabhängigkeit des Transfers und Gehaltes im Gewebe in beiden Richtungen, wurde die ^{3}H- Folsäure-Bewegung sowie der Folsäuregehalt im Gewebe von der Mucosa- zur Serosaseite bzw. in umgekehrter Richtung an evertierten und nicht evertierten Jejunumsegmenten nach der Methode von Wilson und Wiseman (88) untersucht. Hierzu wurde ^{3}H- Folsäure in einem Konzentrationsbereich von 2 x 10^{-9} mol/l entweder auf der Mucosa- oder Serosaseite des Darmpräparates angeboten. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tab. IV verzeichnet und in Abb.3 dargestellt. Wie aus Abb. 3 hervorgeht, verläuft der Folsäure-Transfer von der Mucosa- zur Serosaseite in einem Konzentrationsbereich von 2 x 10^{-9} mol/l bis 10^{-6} mol/l zunächst annähernd linear und nimmt erst mit steigender ^{3}H-Folsäure-Konzentration von 10^{-6} mol/l bis 10^{-4} mol/l rapide ab. Demgegenüber verläuft der Transfer von ^{3}H- Folsäure in umgekehrter Richtung (S → M) nahezu unabhängig von der Angebotskonzentration (Abb.3).

Betrachtet man den Gehalt an ^{3}H- Folsäure im Gewebe von M → S, verzeichnet man bereits innerhalb des niedrigen Konzentrationsbereiches von 2 x 10^{-9} mol/l bis 10^{-6} mol/l eine starke Abnahme des ^{3}H-Folsäure-Gehaltes im Gewebe, während der ^{3}H-Folsäure-Gehalt in entgegengesetzter Richtung in einem Bereich von 5 x 10^{-7} mol/l bis 10^{-4} mol/l nahezu unabhängig von der Konzentration verläuft und rund 4% des Angebotes beträgt. Bemerkenswert ist allerdings, daß bei der niedrigsten geprüften

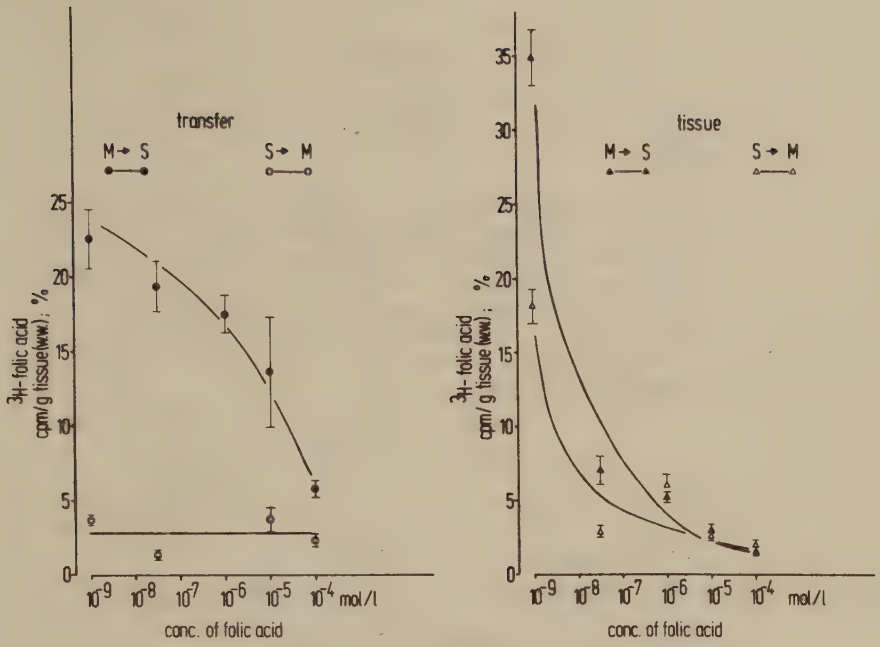

Abb. 3
Transfer und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Gewebe an evertierten und nicht evertierten Jejunumsegmenten in Abhängigkeit von der Konzentration

Methode: Wilson und Wiseman (88);
Versuchsdauer: 120 min; Temperatur: 37°C.

^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn entweder der Außenlösung (M → S) oder der Innenlösung (S → M) in einer Konzentration von 2 x 10^{-9} mol/l ($\hat{=}$ 42200 Ipm/ml) zugesetzt.
Die Meßpunkte entsprechen Mittelwerten aus 7 - 8 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) (s.Tab. IV im Anhang).
Linke Ordinate: Transfer; transportierte Menge an ^{3}H- Folsäure-Aktivität in Ipm/g Darmfeuchtgewicht in Prozent des Angebotes.
Rechte Ordinate: Gehalt im Gewebe; Ipm/g Darmfeuchtgewicht in Prozent des Angebotes.
Abszisse: Folsäure-Konzentrationen.

Konzentration von 2 x 10^{-9} mol/l der ^{3}H-Folsäure- Gehalt im Gewebe auf 18% des Angebotes ansteigt.

Die Untersuchungen haben gezeigt, daß der Transfer durch die Darmwand und die Aufnahme von ^{3}H-Folsäure ins Darmgewebe von M → S, insbesondere am proximalen Jejunum, abhängig von der Angebotskonzentration verläuft; während der Transfer und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Gewebe am terminalen Ileum offensichtlich unabhängig von der angebotenen Konzentration ist.

3.1.2.3 Sättigungskinetik am Jejunum

Zur Beurteilung der Transportkinetik wurde der Transfer von ^{3}H- Folsäure von M → S in einem engeren Konzentrationsbereich von 10^{-6} bis 10^{-4} mol/l an evertierten Jejunumsegmenten untersucht. Dazu wurde ^{3}H- Folsäure auf der Mucosaseite des Darmpräparates angeboten und anschließend die transportierte Menge an ^{3}H- Aktivität gemessen, die in mol/cm u. min umgerechnet wurde. Wie aus Tab. V und Abb. 4 hervorgeht, konvergiert die Transportgeschwindigkeit für Folsäure pro cm u. min mit steigenden Folsäure-Konzentrationen gegen einen Grenzwert; m.a.W. der Folsäure-Tranfer von M → S gehorcht der Michaelis-Menten-Kinetik.

3.1.2.4 Lineartransformation des Sättigungtransfers von ^{3}H-Folsäure durch die Darmwand

Zur Sicherung des Sättigungseffektes des Transfers von ^{3}H- Folsäure durch die Darmwand von der Mucosa- zur Serosaseite, wurde die Lineartransformation nach Hanes (40) gewählt, bei der $[S]/v$ gegen $[S]$ aufgetragen wird. Diese Darstellung ergibt eine Gerade, aus deren Steigung $1/V_T$ sowie dem Schnittpunkt mit der Ordinate $[S_{0,5}]/V_T$, die maximale Transportgeschwindigkeit V_T bzw. die Halbsättigungskonstante $[S_{0,5}]$ ermittelt werden kann. Für die maximale Transportgeschwindigkeit V_T ergibt sich ein Wert von 3,2 x 10^{-8} mol/cm u. min. Die Halbsättigungskonstante $[S_{0,5}]$ beträgt 4,9 x 10^{-5} mol/l (Tab. V, Abb.5).

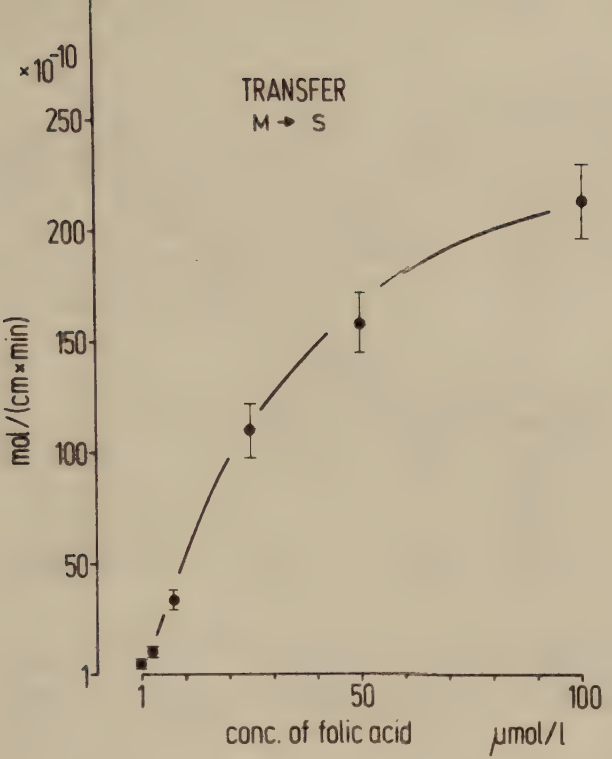

Abb. 4
Transfer durch die Darmwand von ^{3}H- Folsäure an evertierten Jejunumsegmenten in Abhängigkeit von der Konzentration

Methode: Wilson und Wiseman (88);
Versuchsdauer: 120 min; Temperatur: 37°C.

^{3}H- Folsäure wurde zu Versuchsbeginn der Außenlösung in einer Konzentration von 2×10^{-9} mol/l ($\hat{=}$ 42200 Ipm/ml) zugegeben. Am Versuchsende wurde die transportierte Menge an ^{3}H- Aktivität pro cm u.min gemessen und in molare Dimensionen umgerechnet.

Die Meßpunkte entsprechen Mittelwerten aus 6 - 8 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$). (s.Tab. V im Anhang).

Ordinate: Transfer in mol/cm u. min

Abszisse: Folsäure-Konzentrationen

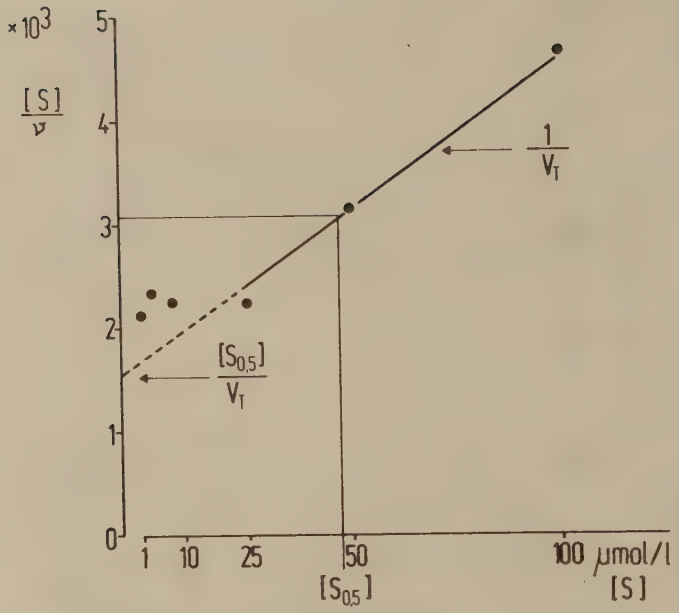

Abb. 5
Lineartransformation nach Hanes (40) des Transfers von ^{3}H- Folsäure durch die Darmwand von der Mucosa- zur Serosaseite.

Ordinate: $[S]/v$; wobei $[S]$ = Folsäure-Konzentration in µmol/l und v= Transportgeschwindigkeit in mol/(cm x min).

Aus der Steigerung der Geraden $1/V_T$ bzw. dem Schnittpunkt mit der Ordinate $[S_{0,5}]/V_T$ kann die maximale Transportgeschwindigkeit V_T bzw. die Halbsättigungskonstante $S_{0,5}$ ermittelt werden.

$V_T = 3{,}21 \times 10^{-8}$ mol/(cm x min) ; $[S_{0,5}] = 4{,}9 \times 10^{-5}$ mol/l.

Achsenabschnitt: $1{,}54 \times 10^3$; Steigerung: $3{,}12 \times 10^7$; Korrelationskoeff.: 1,0

(s. Tab. V im Anhang).

Die Resultate dieser Untersuchungsreihe besagen, daß der Durchtritt durch die Darmwand von M → S am proximalen Jejunum in einem Konzentrationsbereich von 10^{-6} - 10^{-4}mol/l im Kurvenverlauf deutlich Sättigungscharakter zeigt, sodaß durch Lineartransformation die maximale Transportgeschwindigkeit V_T bzw. die Halbsättigungskonstante $\left[S_{0,5}\right]$ ermittelt werden konnte.

3.1.3 Zeitlicher Verlauf des Transfers durch die Darmwand und der Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Darmgewebe

3.1.3.1 Transfer durch die Darmwand und Gehalt im Darmgewebe

Der zeitliche Verlauf des Durchtritts durch die Darmwand wurde an evertierten Darmsegmenten (Duodenum, Jejunum, Ileum) nach der Methode von Wilson und Wiseman (88) vorgenommen. Zu diesem Zweck wurde ^{3}H- markierte Folsäure in einer Konzentration von 2 x 10^{-9} mol/l auf der Mucosaseite (M → S) der verschiedenen Darmabschnitte angeboten. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tab. VI verzeichnet und in Abb.6 graphisch dargestellt.

Wie aus Abb. 6 zu entnehmen ist, steigt der Durchtritt durch die Darmwand ebenso wie die Aufnahme ins Gewebe der geprüften Darmabschnitte (Duodenum, Jejunum, Ileum) linear mit der Zeit an.

3.1.3.2 G/M- Quotient; S/M- Quotient

Bildet man aus der Konzentration an ^{3}H- Folsäure-Aktivität im Gewebe nach Versuchsende und der Anfangskonzentration in der Inkubationslösung auf der Mucosaseite den Quotienten q auf der Basis der ^{3}H- Aktivität : Ipm pro g Feuchtgewicht/ Ipm pro ml Inkubationsflüssigkeit (Mucosaseite), dann zeigt sich, daß das Jejunum und das Duodenum offensichtlich die Fähigkeit besitzen, ^{3}H- Folsäure

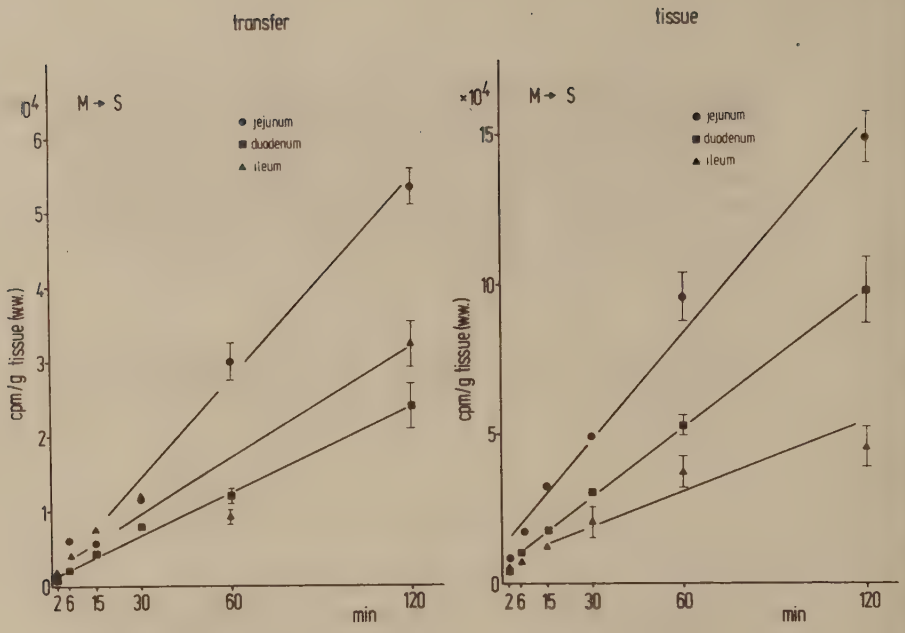

Abb. 6
Transfer und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Gewebe an evertierten Duodenum-, Jejunum- und Ileumsegmenten in Abhängigkeit von der Zeit

Methode: Wilson und Wiseman (88) ; Temperatur: 37°C.

^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn der Außenlösung in einer Konzentration von 2×10^{-9} mol/l ($\hat{=}$ 42200 Ipm/ml) zugegeben. (Tab. VI im Anhang)

Die Meßpunkte entsprechen Mittelwerten von 6 - 8 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$).

Linke Ordinate: Transfer; transportierte Menge an ^{3}H- Folsäure-Aktivität in Ipm/g Darmfeuchtgewicht.

Abszisse: Zeit in Minuten.

gegen einen Konzentrationsgradienten im Darmgewebe zu akkumulieren. Wie aus Abb. 7 deutlich wird, übersteigt die ^{3}H- Folsäure-Konzentration im Jejunumgewebe innerhalb der zweistündigen Versuchsdauer die initiale ^{3}H- Folsäure-Konzentration in der Inkubationslösung (Mucosaseite) um das 3,8- fache, während der ^{3}H- Folsäure-Gehalt im Duodenumgewebe ca. 2,3 mal höher ist als die Konzentration in der mucosalen Außenlösung des Darmpräparates. Ähnlich wie am Jejunum und Duodenum, beobachtet man am terminalen Ileum eine lineare Zunahme des Transfers durch die Darmwand wie auch des ^{3}H- Folsäure-Gehaltes im Gewebe (Abb.6). Dagegen wird jedoch am Ileum ^{3}H- Folsäure nicht gegen einen Konzentrationsgradienten im Darmgewebe angereichert, lediglich kommt es innerhalb von 120 min Versuchzeit zu einem Ausgleich der Konzentrationen zwischen dem Darmgewebe und der Inkubationsflüssigkeit auf der Mucosaseite (Abb.7).

Betrachtet man in diesem Zusammenhang den Anstieg der Konzentration von ^{3}H- Folsäure auf der Serosaseite gegenüber der initialen ^{3}H- Folsäure-Konzentration auf der Mucosaseite, dann fällt auf, daß zwar in den geprüften Darmabschnitten (Duodenum, Jejunum, Ileum) eine allmähliche Zunahme der ^{3}H- Folsäure-Konzentrationen während der zweistündigen Versuchszeit auf der Blutseite der Darmpräparate zu verzeichnen ist, jedoch in keinem Falle ein Gleichgewicht zwischen den Konzentrationen auf der Mucosa- und Serosaseite erreicht wird. Das heißt m.a.W., daß der auf der Grundlage der ^{3}H- Aktivität ermittelte Quotient q:Ipm/ml (Serosaseite)/Ipm pro ml (Mucosaseite) bei allen geprüften Darmsegmenten nach 120 min Versuchsdauer kleiner als 1 ist. Am Jejunum beträgt der Quotient q nach Versuchsende 0,60; am Duodenum 0,37 bzw. am Ileum 0,27. (Tab. VI, Abb. 7). Der Durchtritt der Folsäure durch das Mucosaepithel zur Serosaseite ist demzufolge ein langsamer Vorgang.

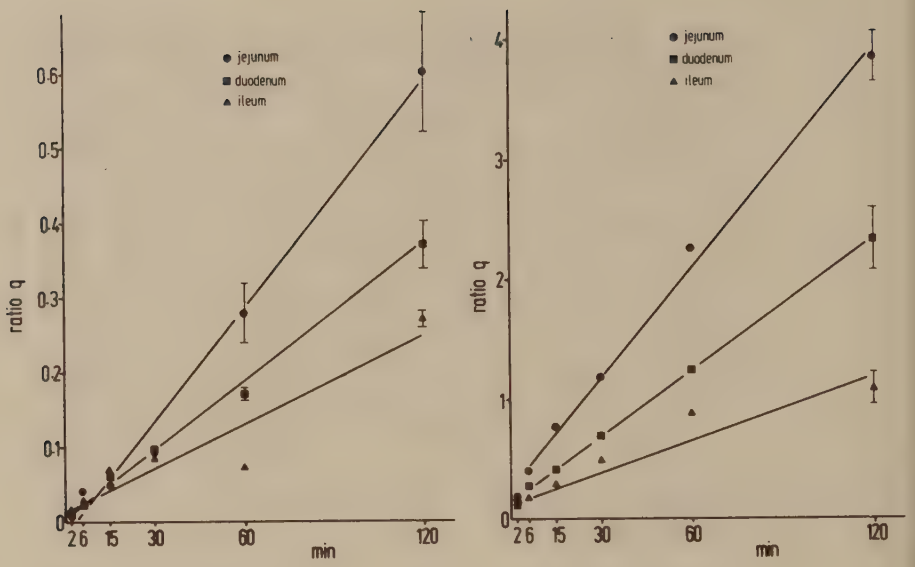

Abb. 7
Der zeitliche Verlauf des Transfers von ^{3}H-Folsäure von der Mucosa- zur Serosaseite sowie des Gehaltes von ^{3}H- Folsäure im Gewebe an evertierten Duodenum-, Jejunum- und Ileumsegmenten

Methode: Wilson und Wiseman (88) ; Temperatur: 37°C.

^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn der Außenlösung in einer Konzentration von 2×10^{-9} mol/l ($\hat{=}$ 42200 Ipm/ml) zugegeben. Am Versuchsende wurde die ^{3}H- Aktivität in der Serosaflüssigkeit sowie im Darmgewebe gemessen. Die Meßpunkte entsprechen den Mittelwerten aus 5 - 8 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$). (s.Tab. VI im Anhang).

Linke Ordinate: Quotient $q_1 = \frac{\text{Ipm/ml Serosaflüssigkeit}}{\text{Ipm/ml Mucosaflüssigkeit}}$

Rechte Ordinate: Quotient $q_2 = \frac{\text{Ipm/ml Darmfeuchtgewicht}}{\text{Ipm/ml Mucosaflüssigkeit}}$

3.1.4 Transfer durch die Darmwand und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Darmgewebe in Abhängigkeit von der Temperatur.

Angesichts der bisher vorgestellten Befunde, liegt die Vermutung nahe, daß ^{3}H- Folsäure im Dünndarm, insbesondere im oberen Jejunum, im Gewebe akkumuliert und bevorzugt von der Mucosa- zur Serosaseite bewegt wird. Hierbei erhebt sich die Frage, ob es sich dabei um eine einfache Diffusion handelt, oder ob bei diesem Vorgang stoffwechselabhängige Prozesse eine Rolle spielen. Zur näheren Klärung dieser Frage wurden evertierte und nicht evertierte Jejunumsegmente nach der Methode von Wilson und Wiseman (88) bei verschiedenen Temperaturen (7°C, 15°C, 25°C) inkubiert, wobei die Experimente bei 37°C als Kontrollversuche dienten.

^{3}H- Folsäure-Aktivität wurde in einer Konzentration von 2×10^{-9} mol/l entweder auf der Mucosaseite (M → S) oder auf der Serosaseite (S → M) angeboten. Die Resultate dieser Untersuchungsreihe sind in Tab. VII aufgeführt und in Abb.8 + 9 graphisch dargestellt.

3.1.4.1 Transfer durch die Darmwand

Wie aus Abb.8 hervorgeht, findet durch Herabsetzen der Temperatur von 37° (Kontrollversuche) auf niedrigere Inkubationstemperaturen eine schrittweise Senkung des Transfers von ^{3}H- Folsäure sowohl von der M → S als auch von der S → M statt. Während der Durchtritt von ^{3}H- Folsäure von der M → S bei 25°C gegenüber den Kontrollversuchen (37°C) kaum unterschieden ist, findet man jedoch bei einer weiteren Senkung der Temperatur auf 15°C eine Beeinträchtigung der Transportleistung des Darmes um ca. 29% bzw. um etwa 65% bei 7°C.

Ein ähnliches Bild ergibt sich bei der Prüfung des Durchtritts von ^{3}H- Folsäure in entgegengesetzter Richtung, d.h. von der S → M. Hier sinkt bereits bei 25°C ebenso wie bei 15°C die Transportleistung des Darmes um rund 45% ab. Durch Senkung der Temperatur auf 7°C ist der Transfer von ^{3}H-Aktivität von S → M um ca. 54% gegenüber den

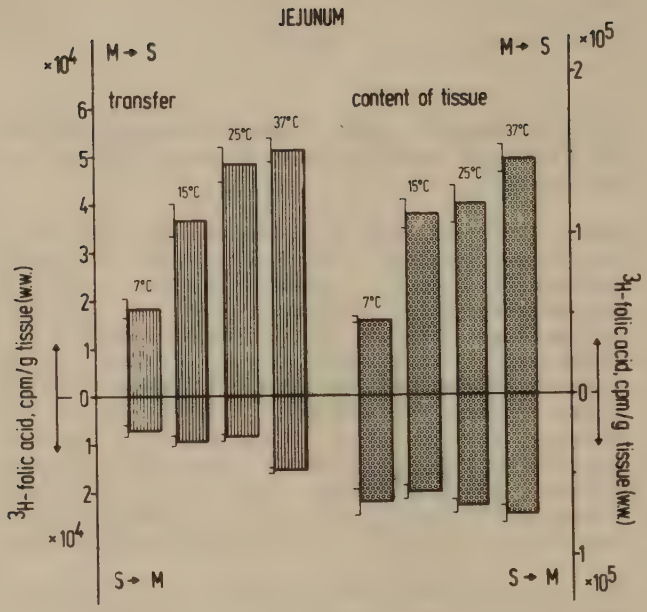

Abb. 8
Transfer und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Gewebe an evertierten und nicht evertierten Jejunumsegmenten in Abhängigkeit von der Temperatur

Methode: Wilson und Wiseman (88);
Versuchsdauer 120 min.
^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn entweder der Außenlösung (M → S) oder der Innenlösung (S → M) in einer Konzentration von 2×10^{-9} mol/l (≙ 42200 Ipm/ml) zugegeben.
Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 6 - 8 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) (s. Tab. VII im Anhang).
Linke Ordinate: Transfer; transportierte Menge an ^{3}H- Folsäure-Aktivität in Ipm/g Darmfeuchtgewicht.
Rechte Ordinate: Gehalt im Gewebe; Ipm/g Darmfeuchtgewicht.
Die Ordinatenmaßstäbe sind unterschiedlich.

Kontrollversuchen (37°C) verringert.

3.1.4.2 Gehalt im Darmgewebe

Betrachtet man den ^{3}H- Folsäure-Gehalt im Gewebe evertierter Darmpräparate bei mucosalem Angebot (M → S), so zeigt sich, daß die Fähigkeit der Darmpräparate zur Anreicherung von ^{3}H- Folsäure-Aktivität im Darmgewebe mit sinkender Inkubationstemperatur stufenweise bis auf etwa 32% bei der niedrigsten geprüften Temperatur von 7°C abnimmt. Demgegenüber verläuft die Akkumulation von ^{3}H-Folsäure im Gewebe nach einem Angebot auf der Serosaseite (S → M) offensichtlich unabhängig von der Temperatur (Abb.8).

3.1.4.3 Netto-Verschiebung von ^{3}H- Folsäure im Konzentrations-Gleichgewicht

Zur Bestimmung der Folsäure-Netto-Verschiebung im Gleichgewicht, wurde ^{3}H- Folsäure (2×10^{-9} mol/l) zu Versuchsbeginn auf beiden Seiten des Darmsäckchens angeboten. Am Ende des Versuchs wurde die ^{3}H- Aktivität auf der Mucosa- und Serosaseite sowie im Darmgewebe bestimmt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen, in Tab. VIII zusammengefaßt und in Abb.9 graphisch dargestellt, unterstützen die in Abb.8 dargestellten Resultate, indem deutlich wird, daß das Jejunum durch Senkung der Temperatur offensichtlich die Fähigkeit verliert, auch im Gleichgewicht der Konzentrationen, ^{3}H- Folsäure gegen einen Gradienten im Gewebe anzureichern.

Während unter Kontrollbedingungen (37°C) eine Akkumulation von ^{3}H- Folsäure um das ca. 3- fache gegenüber der Mucosa- und Serosaseite zu verzeichnen ist, kommt es bei 7°C lediglich zu einem Konzentrationsausgleich zwischen dem Darmgewebe und der Innen- und Außenlösung des Darmpräparates.

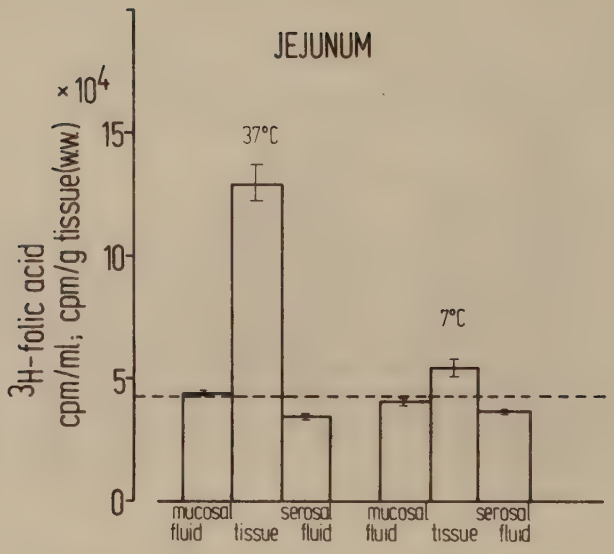

Abb. 9
Netto-Verschiebung von ^{3}H- Folsäure im Konzentrations-Gleichgewicht an evertierten Jejunumsegmenten in Abhängigkeit von der Temperatur

Methode: Wilson und Wiseman (88);
Versuchsdauer: 120 min.
^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn der Außen- und der Innenlösung in einer Konzentration von 2 x 10^{-9} mol/l ($\hat{=}$ 42200 Ipm/ml $\hat{=}$ gestrichelte Linie) zugegeben.
Am Versuchsende wurde die Radioaktivität pro ml Mucosa- bzw. Serosaflüssigkeit und die des Darmgewebes bestimmt.
Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 8 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) (s. Tab. VIII im Anhang).
Ordinate: Ipm/ml Inkubationsflüssigkeit bzw. Ipm/g Darmfeuchtgewicht.

3.1.4.4 Arrhenius-Diagramme der Temperaturabhängigkeit des Transfers sowie der Aufnahme von ^{3}H- Folsäure ins Darmgewebe

Zur präziseren Erfassung der Temperaturabhängigkeit des Folsäure-Transportprozesses wurden Arrhenius-Diagramme des Transfers sowie der Aufnahme von ^{3}H-Folsäure ins Darmgewebe erstellt. Dazu wurde die logarithmierte maximale Transportgeschwindigkeit v_T gegen die reziproke absolute Temperatur 1/T aufgetragen. Diese Auftragung ergibt eine Gerade, aus der μ, ein der Aktivierungsenergie proportionaler Parameter, abgeschätzt werden kann.

3.1.4.4.1 Arrhenius-Diagramm des Transfers von M → S bzw. S → M

In Tab. VII und Abb.10 sind die Arrhenius-Plots der Temperaturabhängigkeit des Tranfers wie auch der Aufnahme von ^{3}H- Folsäure ins Darmgewebe im Temperaturbereich von 7 - 37°C dargestellt. Betrachtet man den Folsäure-Transfer von M → S, fällt sofort auf, daß die Gerade bei der Übergangstemperatur von 25°C spontan abknickt und damit einen bilinearen Verlauf nimmt, während die entsprechende Funktion für den Transfer von S → M ganz offensichtlich flacher und linear verläuft.

3.1.4.4.2 Arrhenius-Diagramm der Aufnahme von M → S bzw. S → M

Prinzipiell ähnliche Kurvenläufe beobachtet man auch bei der Aufnahme von ^{3}H- Folsäure ins Darmgewebe. Während sich auch hier die Steigung der Geraden (M → S) im geprüften Temperaturbereich (15°C) ändert, ergibt sich für die Aufnahme von S → M ebenso wie für den Transfer eine streng lineare Beziehung. (Tab. VII, Abb.10)

Die Resultate dieser Untersuchungsreihe besagen, daß die Senkung der Temperatur des Organbades auf Werte unterhalb von 25°C zu einer schrittweisen Verminderung des Folsäure-Transfers in erster Linie von M → S führt.
Der Gehalt im Gewebe zeigt, daß lediglich die

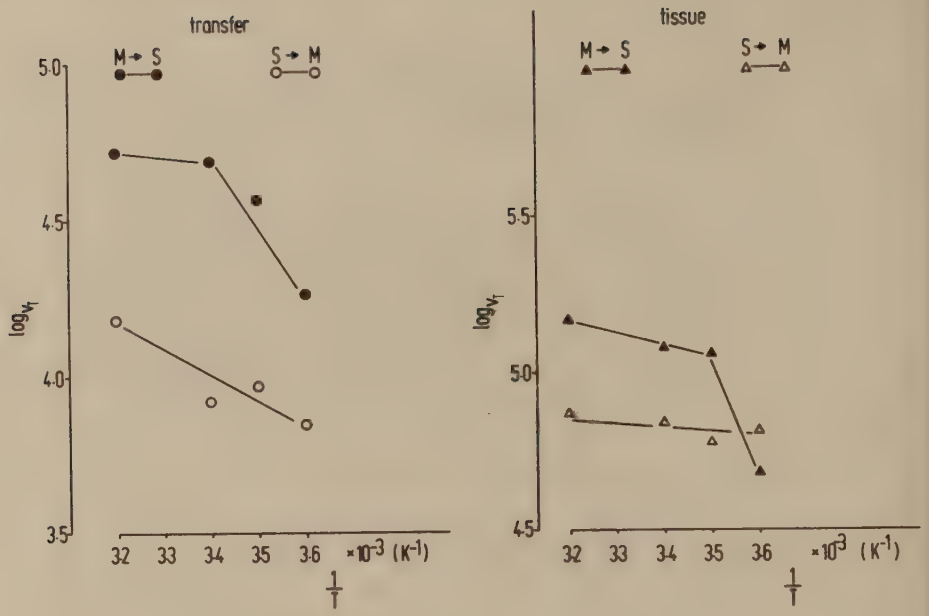

Abb. 10
Arrhenius-Diagramm der Temperaturabhängigkeit des Transfers durch die Darmwand bzw. Aufnahme von ^{3}H-Folsäure ins Darmgewebe an evertierten und nicht evertierten Jejunumsegmenten zwischen 7°C und 37°C.

Die Meßpunkte entsprechen Mittelwerten aus 6 - 8 Einzelversuchen. (s. Tab. VII im Anhang).
Ordinate: Logarithmus der Reaktionsgeschwindigkeit v bei 7°C, 15°C, 25°C und 37°C (T).
Abszisse: Reziproke absolute Temperatur in Kelvin K.

Anreicherung von Folsäure im Darmgewebe von M → S nicht aber von S → M temperaturabhängig ist. Die Arrhenius-Diagramme der Temperaturabhängigkeit des Transfers und Gehaltes von Folsäure im Darmgewebe stehen im Einklang mit den bisher erhobenen Befunden.

3.1.5 Transfer durch die Darmwand und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Darmgewebe in Gegenwart von Salazosulfapyridin

Im Rahmen der näheren Charakterisierung des Transportvorganges von ^{3}H- Folsäure, wurde Salazosulfapyridin als bekannter Inhibitor der Folsäure-Resorption in vitro und in vivo (23,33,39,69,75) in verschiedenen Konzentrationen (2,5mg/l $\hat{=}$ $6{,}3 \times 10^{-6}$ mol/l; 25mg/l $\hat{=}$ $6{,}3 \times 10^{-5}$ mol/l; 250mg/l $\hat{=}$ $6{,}3 \times 10^{-4}$ mol/l) eingesetzt.

Zu Versuchsbeginn wurde ^{3}H- markierte Folsäure in einer Konzentration von 2×10^{-9} mol/l gemeinsam mit Salazosulfapyridin in den oben angegebenen Konzentrationen entweder auf der Mucosa- oder Serosaseite des Darmpräparates angeboten. Die Ergebnisse dieser Untersuchungsreihe sind in den Tab. IX zusammengefaßt und in Abb.11 dargestellt.

3.1.5.1 Transfer und Gehalt im Darmgewebe am Jejunum

Wie aus Abb.11 hervorgeht, bleibt der Transfer von M → S und die Aufnahme von ^{3}H- Folsäure ins Darmgewebe (M → S) bei einer Salazosulfapyridin-Konzentration von 2,5 mg/l ($6{,}3 \times 10^{-6}$ mol/l) vollkommen unbeeinflußt. Dahingegen hemmen 25 mg/l Salazosulfapyridin den Folsäure-Transfer um 28,5% und verringert die Aufnahme ins Gewebe in gleicher Größenordnung um 26,6% von der Mucosa- zur Serosaseite, während 250 mg/l Salazosulfapyridin zu einer Beeinträchtigung des Folsäure-Transportes (M → S) um 46,2% bzw. zu einem um 28,4% verringerten Folsäure-Gehalt im Gewebe führt.

Wird dagegen Salazosulfapyridin auf der Serosaseite

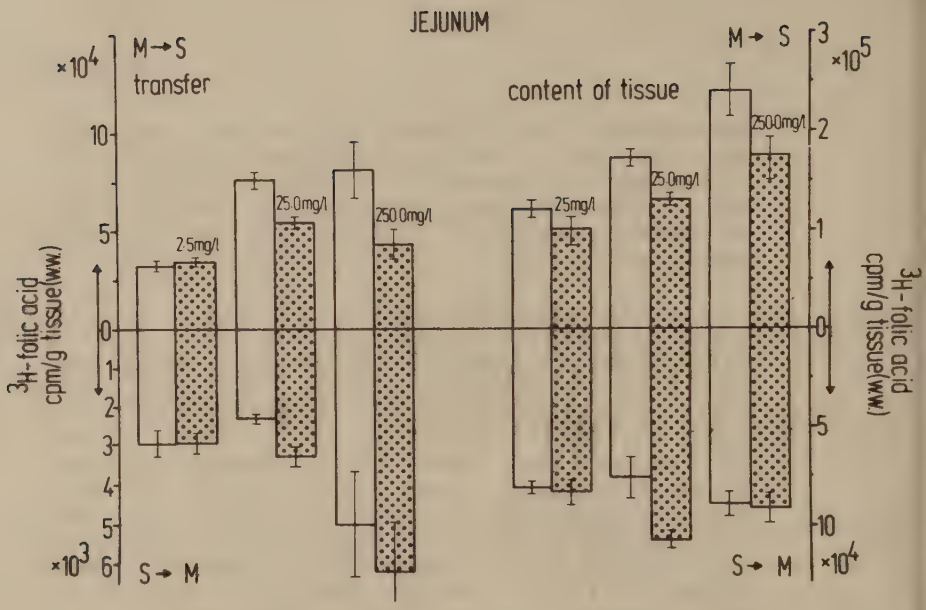

Abb. 11
Transfer und Gehalt von ³H- Folsäure im Gewebe an evertierten und nicht evertierten Jejunumsegmenten in Gegenwart von Salazosulfapyridin

Methode: Wilson und Wiseman (88);
Versuchsdauer: 120 min; Temperatur: 37°C.
³H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn entweder der Außenlösung (M → S) oder der Innenlösung (S → M) in einer Konzentration von 2 x 10^{-9} mol/l (≙42200 Ipm/ml) zugegeben. Salazosulfapyridin wurde in einer Konzentration von 2,5 mg/l (≙ 6,3 x 10^{-6} mol/l); 25,0 mg/l (≙ 6,3 x 10^{-5} mol/l) bzw. 250,0 mg/l (≙ 6,3 x 10^{-4} mol/l) zugesetzt. (gerasterte Säulen).
Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 7 - 8 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$). (s. Tab. IX im Anhang).
Linke Ordinate: Transfer; transportierte Menge an ³H- Aktivität in Ipm/g Darmfeuchtgewicht.
Rechte Ordinate: Gehalt im Gewebe; Ipm/g Darmfeuchtgewicht.
Die Ordinatenmaßstäbe sind unterschiedlich.

des Darmpräparates angeboten, um den Folsäure-Transfer in Sekretionsrichtung zu verfolgen, dann zeigt sich, daß bei allen geprüften Salazosulfapyridin- Konzentrationen kein Unterschied zur Kontrollgruppe feststellbar ist. Auch die Aufnahme von ^{3}H- Folsäure ins Gewebe von der Serosaseite her, ist in Gegenwart von Salazosulfapyridin nicht verringert. Das bedeutet, daß eine Beeinträchtigung des Durchtritts durch die Darmwand sowie des Gehaltes von ^{3}H- Folsäure an der mucosalen Seite des Darmpräparates zu suchen ist.

3.1.5.2 Transfer und Gehalt im Darmgewebe am Colon

Am Colon wurde der Transfer sowie die Aufnahme von ^{3}H- Folsäure ins Darmgewebe in Gegenwart von Salazosulfapyridin exemplarisch bei einer Konzentration von 250 mg/l ($\hat{=}$ 6,3 x 10^{-4} mol/l) geprüft. Zu diesem Zweck wurde ^{3}H- Folsäure (2 x 10^{-9} mol/l) zusammen mit Salazosulfapyridin (250 mg/l $\hat{=}$ 6,3 x 10^{-4} mol/l) entweder auf der Mucosa- oder Serosaseite des Darmpräparates angeboten. Wie aus Tab. IX im Anhang hervorgeht, findet am Colon ascendens im Gegensatz zum oberen Jejunum keine Beeinträchtigung des transepithelialen Folsäure-Transfers von der Mucosa- zur Serosaseite bzw. in umgekehrter Richtung durch Salazosulfapyridin statt. Vielmehr beobachtet man unter Salazosulfapyridin-Bedingungen eine leichte, jedoch statistisch nicht signifikante Steigerung des Folsäure-Transportes von M → S bzw. S → M.

Vergleicht man den Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Colongewebe in Anwesenheit von Salazosulfapyridin mit demjenigen der Kontrollgruppe, kann kein Unterschied zwischen beiden Gruppen festgestellt werden. Dieser Befund erweist sich als unabhängig von der jeweiligen Angebotsseite.

3.1.5.3 Netto-Verschiebung von ^{3}H- Folsäure im Konzentrationsgleichgewicht am Jejunum.

Zur Überprüfung des Folsäure-Netto-Fluxes im Gleichgewicht, wurde 2 x 10^{-9}molare ^{3}H- Folsäure zusammen mit Salazosulfapyridin in den oben genannten Konzentrationen gleichzeitig auf der Mucosa- und Serosaseite des Präparates angeboten. Während bei einer Salazosulfapyridin-Konzentration von 2,5 mg/l (6,3 x 10^{-6}mol/l) keine Änderung in der Endkonzentration der ^{3}H- Folsäure auf der Mucosa- und Serosaseite bzw. im Darmgewebe verglichen mit der Kontrollgruppe feststellbar sind, beobachtet man bei den beiden höheren geprüften Salazosulfapyridin-Konzentrationen erwartungsgemäß eine verringerte Aufnahme von ^{3}H-Folsäure ins Gewebe. 25,0 mg/l Salazosulfapyridin führt zu einer Verminderung des ^{3}H-Folsäure-Gehaltes um 14,1% bzw. 250,0 mg/l um 28,6% (Tab. X, Abb.12).

3.1.5.4 Netto-Verschiebung von ^{3}H- Folsäure im Konzentrationsgleichgewicht am Colon.

Zur Prüfung der Folsäure-Netto-Bewegung unter Gleichgewichtsbedingungen wurde ^{3}H- Folsäure (2 x 10^{-9}mol/l) gemeinsam mit Salazosulfapyridin (250,0 mg/l) gleichzeitig auf beiden Seiten des Darmpräparates zugesetzt. Dabei zeigt sich, daß Salazosulfapyridin in einer Konzentration von 250,0 mg/l ($\hat{=}$6,3 x 10^{-4}mol/l) keinen Einfluß auf die Folsäure-Netto-Bewegung noch auf die Akkumulation von ^{3}H- Folsäure im Gewebe besitzt. Im Gegenteil, es kommt zu einem leicht erhöhten Durchtritt durch die Darmwand wie auch Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Gewebe in Gegenwart von Salazosulfapyridin, insbesondere von der Serosa- zur Mucosaseite (Tab. X im Anhang).

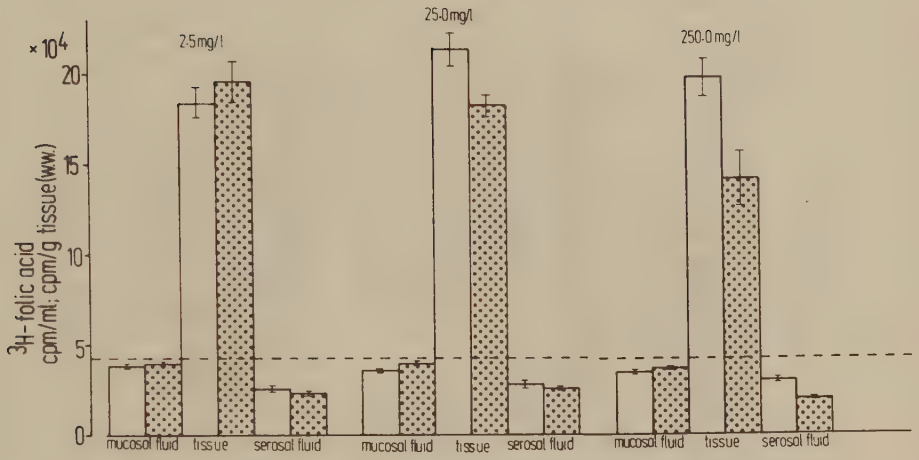

Abb. 12
Netto-Verschiebung von ^{3}H- Folsäure im Konzentrations-Gleichgewicht an evertierten Jejunumsegmenten in Gegenwart von Salazosulfapyridin.

Methode: Wilson und Wiseman (88);
Versuchsdauer: 120 min; Temperatur: 37°C.
^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn der Außen- und Innenlösung in äquimolarer Konzentration von 2 x 10^{-9} mol/l (≙ 42200 Ipm/ml ≙ gestrichelte Linie) zugegeben.
Salazosulfapyridin-Konzentration: 2,5 mg/l (≙ 6,3 x 10-6 mol/l); 25,0 mg/l (≙ 6,3 x 10^{-5} mol/l); 250,0 mg/l (≙ 6,3 x 10^{-4} mol/l) (gerasterte Säulen).
Am Versuchsende wurde die Radioaktivität pro ml Mucosa- bzw. Serosaflüssigkeit und die des Darmgewebes bestimmt.
Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 7 - 8 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$). (s. Tab. X im Anhang).
Ordinate: Ipm/ml Inkubationsflüssigkeit bzw. Ipm/g Darmfeuchtgewicht

3.2 Untersuchungen zum Einfluß von Phenobarbital auf die Resorption von Folsäure in vitro

3.2.1 Transfer durch die Darmwand und Gehalt im Gewebe in Gegenwart von Phenobarbital

Um den Einfluß von Phenobarbital auf den Transfer und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Gewebe zu studieren, wurden evertierte und nicht evertierte Jejunum- und Colonsegmente nach der Methode von Wilson und Wiseman (88) herangezogen. Die Experimente hierzu wurden bei verschiedenen Temperaturen (7°C, 15°C, 37°C) durchgeführt, wobei ^{3}H- Folsäure in einer Konzentration von 2×10^{-9} mol/l zusammen mit Phenobarbital (10^{-5} mol/l) entweder auf der Mucosa- oder Serosaseite des Darmpräparates angeboten wurde. Die Darstellung beschränkt sich jedoch nur auf diejenigen Befunde, die bei Körpertemperatur erhoben wurden. Die Resultate dieser Untersuchungen sind in Tab. XI zusammengefaßt und in Abb.13 graphisch dargestellt.

3.2.1.1 Transfer durch die Darmwand und Gehalt im Gewebe am Jejunum

Wie aus Abb.13 hervorgeht, findet in Gegenwart von Phenobarbital ebenso wie unter Kontrollbedingungen bei sinkender Badtemperatur eine schrittweise Senkung des Folsäure-Transfers sowohl von M → S als auch von S → M statt. Bemerkenswert ist, daß die Folsäure-Bewegung in beiden Richtungen unter dem Einfluß von Phenobarbital bei allen geprüften Temperaturen gegenüber den Kontrollversuchen eingeschränkt ist. Eine statistisch signifikante Beeinträchtigung des Folsäure-Transportes durch Phenobarbital, läßt sich jedoch nur bei Körpertemperatur nachweisen. Hier kommt es in Anwesenheit von 10^{-5} mol/l Phenobarbital zu einer Reduzierung des Transfers von der Mucosa- zur Serosaseite um ca. 20% ($p \leq 0,05$) bzw. um etwa 50% in entgegengesetzter Richtung.

Ähnlich wie beim Transfer von der Mucosa- zur Serosaseite, zeigt sich bei der Betrachtung des

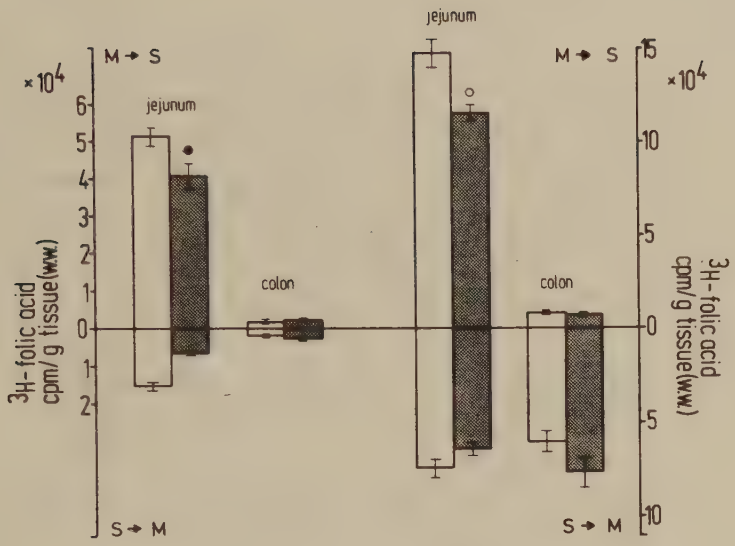

Abb. 13
Transfer und Gehalt von ³H- Folsäure im Gewebe an evertierten und nicht evertierten Jejunum- und Colonsegmenten in Gegenwart von Phenobarbital

Methode: Wilson und Wiseman (88);
Versuchsdauer: 120 min; Temperatur: 37°C.
³H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn entweder der Außenlösung (M → S) oder der Innenlösung (S → M) in einer Konzentration von 2 x 10^{-9} mol/l (≙ 42200 Ipm/ml) zugegeben.
Phenobarbital-Konzentration: 10^{-5} mol/l.
(gerasterte Säulen).
Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 7 - 8 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) (s. Tab. XI im Anhang).
Linke Ordinate: Transfer; transportierte Menge an ³H- Folsäure in Ipm pro g Darmfeuchtgewicht.
Rechte Ordinate: Gehalt im Gewebe; Ipm/g Darmfeuchtgewicht.
o p = 0,05 ; ● p = 0,02 im Vergleich mit den Kontrollen.
Die Ordinatenmaßstäbe sind unterschiedlich.

Gehaltes von ^{3}H- Folsäure im Gewebe, daß Phenobarbital lediglich bei 37°C zu einer verringerten Aufnahme von ^{3}H- Folsäure ins Gewebe um ca. 20% führt. Dieser Befund unterscheidet sich statistisch signifikant von den Kontrollversuchen ($p \leq 0,02$). Am nicht evertierten Jejunum (S → M) verläuft die Akkumulation von ^{3}H- Folsäure, im Gegensatz zum evertierten Darmpräparat (M → S), unabhängig von der Temperatur, wobei die Anreicherung von ^{3}H-Folsäure im Gewebe durch Phenobarbital kaum beeinträchtigt wird.

3.2.1.2 Transfer durch die Darmwand und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Darmgewebe am Colon

Am Colon wurde der Transfer und Gehalt von ^{3}H-Folsäure im Gewebe in Gegenwart von Phenobarbital orientierend bei 37°C geprüft. Wie Abb.13 deutlich zeigt, findet durch Phenobarbital in einer Konzentration von 10^{-5} mol/l keine Beeinflussung der Folsäure-Bewegung sowie des Gehaltes von ^{3}H-Folsäure von der Mucosa- zur Serosaseite und in umgekehrter Richtung statt (Tab. XI, Abb. 13). Auch die Prüfung der Folsäure-Netto-Bewegung im Gleichgewicht ergab keine Änderung im Vergleich zur Kontrolle. Daraus kann gefolgert werden, daß der Durchtritt durch die Darmwand als auch der Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Gewebe am Dickdarm (Colon ascendens) durch Phenobarbital nicht beeinflußt wird.

3.2.2 Vergleich des ^{3}H- Folsäure- und Glucose-Transfers durch die Darmwand in Abhängigkeit von der Phenobarbital-Konzentration

Weiteren Aufschluß über den Einfluß von Phenobarbital auf den Folsäure-Transfer erbrachten diejenigen Experimente, die in Abhängigkeit von der Phenobarbital-Konzentration an isolierten, nicht durchbluteten Darmsegmenten nach der Methode von Fisher und Parsons (28) bei 37°C und 25°C durchgeführt wurden. Hierzu wurde Phenobarbital in einem Konzentrationsbereich von 10^{-8} mol/l - 10^{-2} mol/l der Durchströmungsflüssigkeit zugesetzt. Die Folsäure-Konzentration betrug in

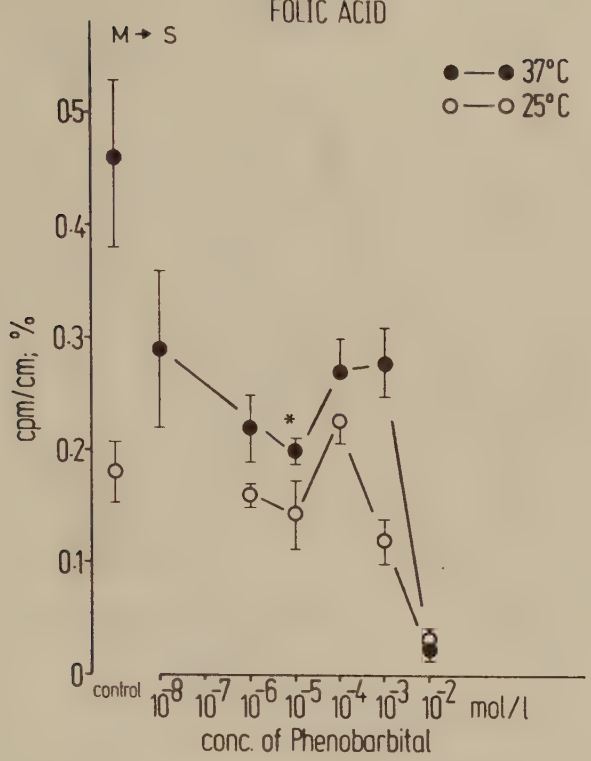

Abb. 14
Transfer durch die Darmwand von ^{3}H- Folsäure an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Jejunumsegmenten in Abhängigkeit von der Phenobarbital-Konzentration

Methode: Fisher und Parsons (28), modifiziert durch Rummel und Stupp (74); Versuchsdauer: 120 min.
^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn der Perfusionslösung in einer Konzentration von 2×10^{-9} mol/l ($\hat{=}$ 42200 Ipm/ml) zugegeben.
Die Meßpunkte entsprechen Mittelwerten aus 5 - 22 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) (s. Tab. XII im Anhang).
Ordinate: Transportierte Menge an ^{3}H-Folsäure-Aktivität in Ipm/cm Darm in Prozent des Angebotes.
Abszisse: Phenobarbital-Konzentration.
* $p = 0{,}05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe

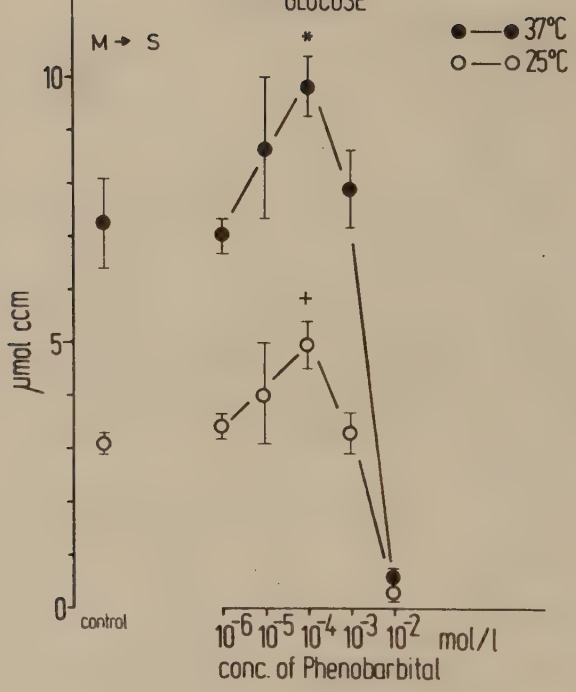

Abb. 15
Glucose-Transfer durch die Darmwand an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Jejunumsegmenten in Abhängigkeit von der Phenobarbital-Konzentration.

Methode: Fisher und Parsons (28), modifiziert durch Rummel und Stupp (74); Versuchsdauer: 120 min.
Die Glucose-Konzentration der Perfusionslösung betrug 15,1 µmol/ml.
Die Meßpunkte entsprechen Mittelwerten aus 4 - 6 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) (s. Tab. XII im Anhang)
Ordinate: Transportierte Menge an Glucose in µmol/cm Darm.
Abszisse: Phenobarbital-Konzentrationen.
*) $p \leq 0{,}05$; +) $p \leq 0{,}02$ im Vergleich mit der Kontrolle.

allen Fällen 2 x 10^{-9} mol/l. Das Ergebnis dieser Untersuchungen ist in Tab. XII aufgeführt und in Abb.14 dargestellt. Auf der Ordinate ist die transportierte Menge an ^{3}H- Folsäure pro cm Darm in Prozent des Angebotes aufgetragen. Die Abszisse gibt die Phenobarbital-Konzentration in der Perfusionslösung wieder. Wie aus Abb.14 zu entnehmen ist, nimmt mit steigenden Konzentrationen von Phenobarbital die transportierte Menge an ^{3}H-Folsäure zunächst annähernd linear ab, um bei 10^{-5} mol/l eine statistisch signifikante Hemmung des Folsäure-Transfers von M → S zu bewirken. Erhöht man die Phenobarbital-Konzentration auf 10^{-4} mol/l bzw. 10^{-3} mol/l, führt dies interessanterweise nicht zu einer weiteren Zunahme der Beeinträchtigung des Folsäure- Transportes. Erst bei Steigerung der Konzentration auf 10^{-2} mol/l verzeichnet man eine massive Hemmung des Durchtritts um ca. 94%.

Zu einem prinzipiell ähnlichen Kurvenverlauf, führen die bei 25°C erhobenen Befunde. Wie aus Abb. 14 hervorgeht, verringert sich der Folsäure-Transfer unter Kontrollbedingungen (25°C) gegenüber denjenigen bei Körpertemperatur um 60%. Phenobarbital bewirkt bei einer Konzentration von 10^{-6} mol/l und 10^{-5} mol/l kaum Änderungen verglichen mit der Kontrolle, während 10^{-4} mol/l zu einer leichten Steigerung des Folsäure-Transfers führt. Ebenso wie bei 37°C, kommt auch hier der Folsäure-Transport bei einer Phenobarbital-Konzentration von 10^{-2} mol/l fast vollständig zum Erliegen.

Betrachtet man in diesem Zusammenhang den Glucose-Transfer durch das Mucosaepithel von der Mucosa- zur Serosaseite in Abhängigkeit von der Phenobarbital-Konzentration, zeigt sich eine interessante Parallele beim Vergleich der Kurvenverläufe des Folsäure- und Glucose-Transportes.

Wie aus Tab. XII, Abb.15 deutlich hervorgeht, ist bei einer Phenobarbital-Konzentration von 10^{-4} mol/l der Glucose-Transport von M → S sowohl bei 37°C als auch bei 25°C statistisch signifikant erhöht. (vergleiche hierzu auch den leichten

Anstieg des Folsäure-Transfers). Höhere Konzentrationen im Bereich von 10^{-2} mol/l führen zu einer drastischen Hemmung des Glucose- und Folsäure- Transportes, die mit einer entsprechenden Verminderung der Flüssigkeits-Resorption verknüpft ist. (vergl. hierzu Kap. 5.)

Die Resultate dieser Untersuchungsreihe besagen, daß Phenobarbital in verschiedenen Konzentrationsbereichen offensichtlich unterschiedliche Wirkungen auf den Transportvorgang physiologischer Stoffe - wie der Folsäure und der Glucose - zeigt.

KAPITEL 4. DISKUSSION

Die Untersuchungen der enteralten Folsäure- Resorption sollen im folgenden unter drei Aspekten betrachtet und diskutiert werden:

1. Welche Rückschlüsse können aufgrund der in vitro Untersuchungen auf den Mechanismus des Folsäure-Transfers durch die Darmwand gezogen werden?

2. In welchen Abschnitten des Darmtraktes findet die Resorption von Folsäure statt?

3. Welche Rückschlüsse können bezüglich des Mechanismus eines Phenobarbital-induzierten Folsäure-Mangels gezogen werden?

4.1 Welche Rückschlüsse können aufgrund der in vitro Untersuchungen auf den Mechanismus des Folsäure-Transfers durch die Darmwand gezogen werden?

4.1.1 Methodisch-kritische Vorbemerkungen

Die Untersuchungen zum Transport der Folsäure durch die Darmwand wurden in vitro, an isolierten, nicht durchbluteten Darmsegmenten der Ratte nach den Methoden von Wilson und Wiseman (88) bzw. Fisher und Parsons (28) modifiziert durch Rummel und Stupp (74) durchgeführt, die zuvor einiger methodisch-kritischer Erörterungen bedürfen:

Die experimentellen Untersuchungen wurden an verschiedenen Dünndarmabschnitten (Duodenum, Jejunum, Ileum) und am Colon ascendens durchgeführt.

Zum Studium des Translokationsvorganges von ^{3}H-Folsäure durch die Darmwand in Richtung der Resorption (M → S) wurden evertierte Darmsegmente eingesetzt. Nicht evertierte Segmente dienten zur

Überprüfung der Folsäure-Bewegung in Richtung der Sekretion (S → M). Durch diese Versuchsanordnung ist es experimentell möglich, selbst geringe Konzentrationsänderungen in der Innenlösung der Darmsäckchen zu erfassen. Die Darmpräparate wurden in zwei verschiedenen Typen von Experimenten eingesetzt:

a) Messung der unidirektionalen Netto-Bewegung von ^{3}H- Folsäure sowohl in Richtung M → S als auch in umgekehrter Richtung S → M. Dabei wurde ^{3}H- Folsäure zu Versuchsbeginn entweder auf der Mucosaseite (M → S) oder auf der Serosaseite (S → M) der Darmpräparate angeboten und der Transfer von ^{3}H- Folsäure durch die Darmwand auf die andere Seite sowie der Gehalt im Gewebe bestimmt.

b) Messung der Netto-Bewegung von ^{3}H- Folsäure im Konzentrations-Gleichgewicht; dazu wurde ^{3}H- Folsäure auf beiden Seiten der Darmpräparate in äquimolaren Konzentrationen zugesetzt. Am Versuchsende wurde die ^{3}H- Aktivität in der Innen- und Außenlösung sowie der Gehalt an ^{3}H- Folsäure im Darmgewebe bestimmt. Die Aussagekraft dieser beiden Versuchstypen ist unterschiedlich. Der Versuch im Konzentrations-Gleichgewicht gibt lediglich die Bilanz aus beiden Netto-Fluxen wieder und erlaubt keinerlei Rückschlüsse auf unidirektionale Netto-Verschiebungen von Folsäure von der Mucosa- zur Serosaseite bzw. in der umgekehrten Richtung.

Isoliert durchströmte, nicht durchblutete Darmsegmente nach der Methode von Fisher und Parsons (28) modifiziert durch Rummel und Stupp (74), zeichnen sich dadurch aus, daß sie, begünstigt durch den Durchströmungsdruck auf der Mucosaseite von ca. 25 cm H_2O, eine leicht meßbare Resorptionsleistung für Flüssigkeit zeigen. Am Jejunum wird in der Stunde ca. 1 ml/10 cm Darmlänge resorbiert, am Ileum gerade etwa die Hälfte; die Resorptionsleistung für Wasser nimmt in den dazwischenliegenden Darmsegmenten von proximal nach distal ab. Werden die Darmabschnitte mit Hemmstoffen des Zellstoffwechsels vergiftet oder wird ihnen ein energielieferndes Substrat oder Sauerstoff entzogen, dann verringert sich die Transportleistung für Flüssigkeit. Deshalb werden

die nach dieser Methode isoliert durchströmten Darmsegmente immer dann benutzt, wenn mit dem Durchtritt eines Stoffes durch die Darmwand gleichzeitig andere physiologische Transportleistungen miterfaßt werden sollen. Außerdem eignen sich diese Darmpräparationen auch gut für Untersuchungen der metabolischen Umwandlung eines Stoffes während des Durchtritts, weil die innerhalb der Versuchszeit von 2 Stunden gewonnenen Resorbatmengen die Analytik erleichtern. Die Frage der metabolischen Umwandlung von Folsäure während der Darmpassage wird im Zusammenhang mit dem Ort der Folsäure-Resorption näher erörtert werden. Vorab sei jedoch schon darauf hingewiesen, daß im Schnitt 98% ^{3}H- Aktivität im Resorbat und im Darmgewebe der unveränderten Folsäure zugeschrieben werden konnte. Eine Korrektur der Ergebnisse des Durchtritts der Folsäure durch die Darmwand und des Gehaltes im Gewebe, die aufgrund der ^{3}H-Radioaktivität ermittelt wurden, erübrigte sich daher.

4.1.2 Translokationsmechanismus für Folsäure

Die Überprüfung der unidirektionalen Netto-Flüsse von ^{3}H- Folsäure hat ergeben, daß Folsäure in allen geprüften Dünndarmabschnitten (Duodenum, Jejunum, Ileum) bevorzugt von der Mucosa- zur Serosaseite transferriert wird. Berechnet man die Differenz der von M → S bzw. S → M transportierten Menge an ^{3}H-Folsäure, dann ergibt sich eine Netto-Verschiebung zur Serosaseite (Abb. 1). Dabei zeigt sich, daß das proximale Jejunum über die höchste Transportkapazität verglichen mit den beiden anderen geprüften Dünndarmabschnitten verfügt. Setzt man die Mittelwerte der einzelnen Darmabschnitte zueinander in Beziehung, dann ergibt sich für das Jejunum ein knapp doppelt so hoher Netto-Transfer von M → S im Vergleich zum Duodenum und Ileum. Am Colon ascendens findet dagegen eine Netto-Verschiebung von ^{3}H- Folsäure in umgekehrter Richtung - in das Darmlumen hinein statt.

Bietet man ^{3}H- Folsäure auf der Mucosaseite des Jejunumpräparates in einem Konzentrationsbereich von 10^{-6} - 10^{-4} mol/l an und ermittelt den

Folsäure-Transfer pro cm u. min, zeigt sich im Kurvenverlauf deutlich ein Sättigungseffekt (Abb.4).

Senkt man die Temperatur des Inkubationsmediums unter 25°C, verzeichnet man eine graduelle Verminderung des Folsäure-Transfer von M → S sowie korrespondierend dazu einen verminderten Gehalt an ^{3}H- Folsäure im Jejunumgewebe (Abb. 8 + 9).

Untersucht man den Tranfer und den Gehalt von ^{3}H-Folsäure im Gewebe von M → S bzw. S → M am Jejunum in Gegenwart von Salazosulfapyridin (4- Hydroxy-4'- (2-pyridylsulfamoyl) azobenzol-3- carbonsäure), einem bekannten Hemmstoff der Folsäure-Resorption in vivo (33,39) sowie der Aufnahme ins Gewebe in vitro (69,75), zeigt sich eine Verminderung des Transportes und Folsäure-Gehaltes im Gewebe nur von M → S (Abb. 11 + 12).

Angesichts dieser Beobachtungen, die im folgenden noch eingehender erörtert werden sollen, liegt die Vermutung nahe, daß es sich beim Transport von ^{3}H-Folsäure durch die Darmwand nicht ausschließlich um einen einfachen Diffusionsvorgang handelt, sondern, daß auch energieabhängige Transportmechanismen beteiligt sind.

4.1.2.1 Zur Konzentrationsabhängigkeit

Am oberen Jejunum erweist sich der Durchtritt durch die Darmwand sowie der ^{3}H- Folsäure-Gehalt im Gewebe von M → S in einem Bereich von 2×10^{-9} - 10^{-4} mol/l als konzentrationsabhängig: mit steigenden Konzentrationen nimmt die prozentuale Transportrate wie auch der Gehalt an ^{3}H- Aktivität im Gewebe pro g Feuchtgewicht in Prozent des Angebotes ab. Dieses Verhalten läßt sich dagegen nicht für den Transport und Gehalt im Darmgewebe in der umgekehrten Richtung von S → M nachweisen.

Unter Berücksichtigung der Streuungen der Ergebnisse kann kein Unterschied des Folsäure-Transfers von S → M in Abhängigkeit von der angebotenen Konzentration festgestellt werden. Der Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Darmgewebe (Jejunum) ist

bei einem ^{3}H- Folsäure-Angebot auf der Serosaseite (S → M) über einen weiten Bereich von 5 x 10^{-7} - 10^{-4} mol/l hinweg ebenfalls konzentrationsunabhängig. Lediglich bei der niedrigsten geprüften Konzentration (2 x 10^{-9} mol/l) ist jedoch der ^{3}H-Folsäure-Gehalt im Gewebe um das 4- fache im Vergleich mit den übrigen geprüften Konzentrationen erhöht (Abb. 3).

Zur Beurteilung der Transportkinetik wurde der ^{3}H Folsäure-Transfer von der Mucosa- zur Serosaseite in einem engeren Konzentrationsbereich von 10^{-6} - 10^{-4} mol/l geprüft. Dabei konnte gezeigt werden, daß die Transportgeschwindigkeit für Folsäure pro cm u. min mit steigenden Folsäurekonzentrationen gegen einen Grenzwert konvergiert (Abb. 4). Durch die Lineartransformation nach Hanes (40) - $[S]/v$ gegen $[S]$ -, konnte aus der Steigung ($1/V_T$) sowie dem Schnittpunkt der Ordinate $[S_{0,5}]/V_T$ die maximale Transportgeschwindigkeit V_T sowie die Halbsättigungskonstante $[S_{0,5}]$ abgeschätzt werden. Der Wert für V_T beträgt 3,2 x 10^{-8} mol/cm u. min; der $[S_{0,5}]$-Wert liegt bei 4,9 x 10^{-5} mol/l. Diese Werte zeigen größenordnungsmäßig eine befriedigende Übereinstimmung mit anderen Autoren (23,68); ein weiterer Vergleich ist jedoch wegen der Speziesunterschiede und der andersartigen Versuchsanordnung nicht möglich.

^{3}H- Folsäure wird im Darmepithel angereichert. Besonders deutlich ist das am proximalen Jejunum zu zeigen. Vergleicht man die ^{3}H- Aktivität pro g Darmfeuchtgewicht mit derjenigen pro ml Inkubationsflüssigkeit (Mucosa-bzw. Serosaseite), dann ist eine Akkumulation von Folsäure im Gewebe von der Mucosaseite aus in nennenswertem Umfange nur beim Jejunum und etwas beim Duodenum zu beobachten. Dagegen ist von der Serosaseite aus bei allen geprüften Darmabschnitten eine gleichartige Akkumulation von etwa dem Zweifachen festzustellen. An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, daß einige Autoren (8,23) bei ihren tierexperimentellen Untersuchungen keine Akkumulation von Folsäure im Darmgewebe fanden, oder nur unter bestimmten Voraussetzungen, wie z.B. im Bikarbonat freien Puffer (8).
Die Gründe für diese widersprüchlichen Befunde sind

unklar. Interessanterweise zeigt sich, daß diejenigen Autoren, die keine Anreicherung von Folsäure im Gewebe beobachteten, ihre experimentellen Untersuchungen im mikromolaren Bereich durchführten. Aufgrund der eigenen Studien hat sich jedoch gezeigt, daß erst in einem Konzentrationsbereich um 10^{-9} mol/l mit einer nennenswerten Anreicherung von Folsäure im Gewebe gerechnet werden kann, sodaß hier eine plausible Erklärung für die widersprüchlichen Resultate liegen könnte.

4.1.2.2 Zur Temperaturabhängigkeit

Weitere Anhaltspunkte für die Deutung des Transfervorganges von Folsäure durch die Darmwand als stoffwechselabhängiger Transportprozeß, haben diejenigen Versuche ergeben, bei denen die Temperatur des Organbades auf Werte unterhalb von 25°C gesenkt wurde. Dabei hat sich gezeigt, daß am Jejunum durch Herabsetzen der Badtemperatur auf niedrigere Inkubationstemperaturen (7°C, 15°C, 25°C) eine schrittweise Senkung sowohl des Folsäure-Transfers als auch des Gehaltes an ^{3}H-Aktivität im Darmgewebe von M → S stattfindet. Dieser Befund wird unterstützt durch die bei Konzentrations-Gleichgewicht erhobenen Resultate, die zeigen, daß bei Senkung der Temperatur auf 7°C, das Jejunumgewebe anscheinend die Fähigkeit verliert, ^{3}H- Folsäure im Darmepithel zu akkumulieren (Abb. 9). Dagegen erweist sich der Transfer sowie Gehalt an ^{3}H- Aktivität im Darmgewebe in der umgekehrten Richtung von S → M als unempfindlich gegen die Senkung der Inkubtionstemperatur (Abb. 8 + 9). Die in diesem Zusammenhang erstellten Arrhenius-Diagramme (1) der Temperaturabhängigkeit des Transportes durch die Darmwand sowie der Aufnahme von ^{3}H- Folsäure ins Darmgewebe von M → S bzw. S → M, stehen im Einklang mit den bisher dargestellten Befunden. Es wird deutlich, daß die Geraden für den Transfer und die Aufnahme von ^{3}H- Folsäure ins Darmgewebe von M → S spontan (jedoch bei unterschiedlichen Übergangstemperaturen) abknicken und einen bilinearen Verlauf annehmen. Die entsprechenden Funktionen des Transfers und der Aufnahme ins

Darmgewebe von S → M verlaufen flacher und linear (Abb. 10).

Nach Auffassung von Crozier (1964) läßt sich der Knick (gelegentlich sogar diskontinuierlicher Bruch) in der Arrhenius-Geraden auf einen Wechsel der "Schrittmacherreaktion" zurückführen, weil eine Änderung des limitierenden, geschwindigkeitsbestimmenden Schrittes in der Reaktionskaskade stattfindet. Der Wechsel der Schrittmacherreaktion im Reaktionsablauf kann auch auf eine Phasenänderung im Membransystem zurückzuführen sein (52). Untersuchungen an Chloroplastenmembranen aus Tomaten zeigen, daß anscheinend ein enger Zusammenhang zwischen Knicken und Brüchen im Arrhenius-Plot und einer entsprechenden temperaturbedingten Phasenänderung des Membranzustandes besteht (52). Inwieweit derartige Vorstellungen, die an einfach gebauten Membranen und Membransystemen erarbeitet wurden, für die Beurteilung und Differenzierung von Transfermechanismen durch Mucosaepithelzellen herangezogen werden können, die nicht an einfachen Membranen, sondern so wie hier an komplexeren Membransystemen erarbeitet wurden, kann gegenwärtig noch nicht beurteilt werden.

4.1.2.3 Zur Hemmung des Folsäure-Transfers durch Salazosulfapyridin

Wenn man ein akkumulierendes Transportsystem für die Translokation von Folsäure durch das Mucosaepithel diskutiert, dann ist zu erwarten, daß sich der Transfer bzw. die Aufnahme ins Darmgewebe durch spezifische Inhibitoren hemmen läßt. Ein bekannter Hemmstoff der Resorption von Folsäure (23,33,39,69,75) ist Salazosulfapyridin, ein Sulfonamid, das therapeutisch, insbesondere zur Rezidivprophylaxe der Colitis ulcerosa und bei Morbus Crohn, zur Anwendung kommt. Am oberen Jejunum der Ratte zeigt sich bei einer Konzentration von 250 mg/l (= 6,3 x 10^{-4} mol/l) Salazosulfapyridin bei einem Angebot auf der Mucosaseite eine Beeinträchtigung des Folsäure-Transportes im Darmgewebe um etwa 46% sowie eine Verringerung der Aufnahme von ^{3}H-

Folsäure ins Darmgewebe um 28% von der Mucosa- zur Serosaseite. Wird dagegen Salazosulfapyridin auf der Serosaseite angeboten, um den Transfer von S - M zu verfolgen, ergibt sich kein Unterschied zur Kontrollgruppe. Diese Befunde werden unterstützt durch die bei Konzentrations-Gleichgewicht erhobenen Resultate, bei denen ^{3}H- Folsäure zusammen mit Salazosulfapyridin auf beiden Seiten des Darmpräparates angeboten wurde. Auch hier verzeichnet man eine Verringerung des Folsäure-Gehaltes im Gewebe um 28% bei der höchsten geprüften Konzentration von 6,3 x 10^{-4} mol/l. In dieser Versuchsanordnung ist bei Versuchsende die Konzentration von ^{3}H- Folsäure auf der Serosaseite in Gegenwart von Salazosulfapyridin deutlich niedriger als unter Kontrollbedingungen (Abb.12). Dieser Befund kann als zusätzlicher Hinweis dafür gewertet werden, daß die Aufnahme von ^{3}H- Folsäure ins Gewebe von der Serosaseite durch Salazosulfapyridin nicht beeinträchtigt wird. Eine Verminderung des Durchtritts durch die Darmwand und des Gehaltes von Folsäure im Gewebe läßt sich nur bei einem Angebot von Salazosulfapyridin auf der mucosalen Seite des Darmpräparates nachweisen.

Salazosulfapyridin bewirkt keine Beeinträchtigung des Glucose-Transportes.

4.1.2.4 Schlußfolgerungen zum Translokations-Mechanismus für Folsäure

Faßt man die Resultate der vorliegenden Arbeit über die Natur des Transfer-Mechanismus für Folsäure am Dünn- und Dickdarm zusammen, kann folgendes festgestellt werden:

Für das terminale Ileum bzw. Colon ascendens gibt es keine Anzeichen für ein akkumulierendes Transportsystem, d.h. der Transfer und die Aufnahme ins Gewebe erfolgt in diesen Abschnitten des Darmtraktes per diffusionem.

Demgegenüber handelt es sich beim Transportvorgang von Folsäure durch die Darmwand des proximalen Jejunum mit großer Wahrscheinlichkeit um einen aktiven, carrier-vermittelten Translokations-

vorgang. Hierbei ist zu trennen zwischen dem Gehalt an Folsäure im Darmgewebe, der etwas über den Vorgang der Aufnahme ins Gewebe aussagt, und dem Transfer durch das Darmepithel, in dem auch die Abgabe zur Serosaseite enthalten ist. Für den vorliegenden Fall kann festgestellt werden, daß die Aufnahme ins Darmgewebe stoffwechselabhängig verläuft; d.h. der Grad der Akkumulation von Folsäure im Gewebe ist an einen intakten Zellstoffwechsel gebunden. Demgegenüber ist der Abtransport von Folsäure aus dem Gewebe zur Serosaseite unanhängig von der Stoffwechselenergie.

Die Trennung der Transportvorgänge am Darmepithel, in die Aufnahme ins Gewebe und die Abgabe zum Blut hin, ist in vielerlei Hinsicht erwiesen. Ein Beispiel dafür ist die Resorption von Eisen (30,31).

4.2 In welchen Abschnitten des Darmtraktes findet die Resorption von Folsäure statt?

4.2.1 Allgemeine Vorbemerkungen

Folsäure kommt in pflanzlichen und tierischen Nahrungsstoffen (z.B. Gemüse, Leber, Milch) hauptsächlich als Pteroyloligoglutamat mit 5 - 7 Glutaminsäureresten vor. Als wesentliche Voraussetzung für die intestinale Resorption wird die hydrolytische Abspaltung von Glutaminsäure-Einheiten bis auf eine angesehen. Die hydrolytische Verkürzung soll durch eine Dekonjugase (γ-Glutamyl-Hydrolase) katalysiert werden, die in der Brush-border Membran lokalisiert ist, aber auch in anderen Zellorganellfraktionen (Lysosomen, Mitochondrien) wie auch im Cytosol von Zellen des Darmes, der Leber u.a. vorkommen soll (39,47,61). Umstritten ist bislang die Frage, ob die Hydrolyse bereits intraluminal oder erst intrazellulär abläuft. Nach Auffassung von Halsted (1980) soll die Abspaltung der Glutaminsäurereste unmittelbar beim ersten Kontakt mit der Oberfläche des Mucosaepithels stattfinden. Weitgehend

übereinstimmend wird festgestellt, daß lediglich Pteroylmonoglutaminsäure (Folsäure) die Darmwand zu penetrieren vermag (3,7,72). Aufgrund dieser Tatsache wurden die Untersuchungen zum Studium des Transfers von Folsäure durch die Darmwand mit ^{3}H-markierter Pteroylmonoglutaminsäure vorgenommen.

Nach Auffassung einiger Autoren (17,58,87) soll das Monoglutamat bereits während der Darmpassage, wenn auch nur in geringem Umfange, in die biologisch aktive 5,6,7,8 - Tetrahydrofolsäure bzw. in die methylierte Form 5- Methyltetrahydrofolsäure umgewandelt werden. Eigene orientierende dünnschichtchromatographische Untersuchungen konnten diesen Befund nicht bestätigen. Es zeigte sich, daß mehr als 98% der angebotenen Radioaktivität nach Passage der verschiedenen Darmabschnitte (Duodenum, Jejunum, Ileum) als unveränderte Folsäure identifiziert werden konnte. Die übrige ^{3}H- Aktivität war über die gesamte Dünnschichtplatte verteilt und keinem einheitlichen Peak zuzuordnen (Tab.I im Anhang). Eine Reihe anderer Untersuchungen stimmen mit diesem Befund überein (15,21,55,86).

Die Ursache für diese widersprüchlichen Befunde ist unklar. Möglicherweise läßt sich der Grund darin sehen, daß einerseits bereits reduzierte und andererseits nicht reduzierte Folsäure zum Einsatz kam (49). Aufgrund seiner Untersuchungen kommt Kiil (49) zu dem Schluß, daß der Hauptort der metabolischen Umwandlung von nicht reduzierter bzw. nicht methylierter Folsäure die Leber ist. Dennoch kann die Möglichkeit, daß die Folsäure einem sog. "first pass-effect" bereits während des Durchtritts durch die Darmwand unterliegt und dabei in ihre biologisch aktive Coenzymform umgewandelt wird, nicht völlig ausgeschlossen werden. Aufgrund der eigenen Studien ist anzunehmen, daß es sich dabei um metabolische Veränderungen in vernachlässigbaren Mengen handelt, die mit Hilfe der dünnschicht-chromatographischen Technik nicht zu erfassen sind. Da keine nennenswerte metabolische Veränderung gefunden wurde, war eine Korrektur der Resultate auf den Anteil der Radioaktivität an der unveränderten Substanz nicht nötig.

4.2.2 Orte der Folsäure-Resorption

Die Ergebnisse haben gezeigt, daß ^{3}H- Folsäure über die gesamte Länge des Dünndarms hinweg bevorzugt von der Mucosa- zur Serosaseite transferriert wird. Dabei erweist sich das obere Jejunum als derjenige Darmabschnitt, der über die höchste Transportkapazität verfügt und somit als Hauptort der Resorption von Folsäure betrachtet werden kann. Vergleicht man die Netto-Verschiebung von ^{3}H-Folsäure von M → S der geprüften Dünndarmabschnitte (Duodenum, Jejunum, Ileum) untereinander, so ergibt sich für das Jejunum ein knapp doppelt so hoher Netto-Transfer für Folsäure von M → S als für das Duodenum bzw. terminale Ileum.

Am Colon ascendens beobachtet man eine Netto-Verschiebung von ^{3}H- Folsäure in die entgegengesetzte Richtung- in das Darmlumen hinein (Abb.1).

Welche Ursachen den unterschiedlichen Transportleistungen der einzelnen Abschnitte des Darmtraktes zugrunde liegen, ist unklar. Ein Vergleich der Oberflächen der Epithelien von Jejunum und Ileum legt zwar den Verdacht nahe, daß hier möglicherweise der Grund für die unterschiedliche Transportleistung zu suchen sei - zumal die Oberfläche des Ileums pro cm Länge etwas mehr als die Hälfte des Jejunums beträgt (59), was mit einer knapp doppelt so hohen Transportkapazität des Jejunums in Übereinstimmung zu bringen wäre. Indes versagt diese Interpretation, berücksichtigt man, daß die Colonoberfläche, die pro cm Länge gerade die Hälfte derjenigen des Jejunums ausmacht (59), obwohl das Colon nur ein Bruchteil der Transportleistung des Jejunums erbringt. Es ist daher denkbar, daß die Existenz eines spezifischen Translokationssystems am Jejunum mitverantwortlich für die höhere Transportkapazität dieses Darmabschnittes ist.

Interessant ist die Beobachtung, daß am Colon und Ileum der Gehalt an ^{3}H- Folsäure im Gewebe bei einem Angebot auf der Serosaseite ca. 3 (Colon) bzw. etwa 2 (Ileum) mal höher ist als bei einem Angebot auf der Mucosaseite.

Dieser Befund läßt sich plausibel erklären, bedenkt man, daß die Versorgung des unteren Dünndarmes bzw. Dickdarmes mit Folsäure von der Lumenseite physiologischerweise äußerst gering sein dürfte und daher eine höhere Aufnahmekapazität von der Blutseite durchaus sinnvoll zur Selbstversorgung der Darmzellen mit Folsäure erscheint. Da am Colon kein Transportsystem, aber eine hohe Anzahl schleimproduzierender Zellen existiert, ist nicht auszuschließen, daß die beobachtete Sekretion von Folsäure am Colon mit der Schleimproduktion verknüpft ist. Andererseits darf in diesem Zusammenhang nicht außer acht gelassen werden, daß ein nicht unbeträchtlicher Anteil von Folsäure durch Darmbakterien zur Verfügung gestellt wird. Die Frage nach der Bedeutung, der durch Darmbakterien gebildeten Folsäure für den Stoffwechsel, ist eine lange umstrittene Frage, die aufgrund der hier vorliegenden Resultate eher negativ zu bescheiden sein wird.

4.3 Welche Rückschlüsse können bezüglich des Mechanismus eines Phenobarbital-induzierten Folsäure-Mangels gezogen werden?

4.3.1 Einfluß von Phenobarbital auf den Transfer durch die Darmwand und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Darmgewebe.

Zahlreiche, vor allem klinische Befunde, deuten daraufhin, daß beim Menschen im Verlaufe einer antikonvulsiven Therapie mit Phenobarbital und/oder Diphenylhydantoin Folsäure-Mangelerscheinungen in Form einer megaloblastischen Anämie auftreten können. Welche Ursachen den Mangelerscheinungen zugrunde liegen, ist umstritten. Gegenwärtig werden neben anderen vor allem folgende Erklärungen für diesen Mangel in Erwägung gezogen, die sich in erster Linie auf Untersuchungen mit Diphenylhydantoin stützen (84):

1. Interferenz bei der intestinalen Resorption (35,36,45,56)

2. Inhibition der intestinalen γ-Glutamyl-Hydrolase (4,46,71,80)

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte daher geprüft werden, ob der transepitheliale Transport und die aktuelle Konzentration von ^{3}H- Folsäure im Gewebe durch Phenobarbital in vitro beeinträchtigt wird. Zusätzlich wurde der Einfluß von Phenobarbital auf die Wasser- und Glucose- Resorption untersucht. Eine mögliche Inhibition der intestinalen γ-Glutamyl-Hydrolase durch Phenobarbital brauchte nicht berücksichtigt werden, da durch die Wahl der Methoden der Einfluß von Phenobarbital auf die Resorption von Folsäure direkt gemessen werden konnte und nicht auf die hydrolytische Spaltung angewiesen war.

Die Resultate haben gezeigt, daß der Transport durch die Darmwand sowie der Gehalt von ^{3}H-Folsäure im Gewebe von M → S in Gegenwart von Phenobarbital bei einer Konzentration von 10^{-5} mol/l signifikant gehemmt wird (Abb. 14). Eine weitere Steigerung der Phenobarbital-Konzentration auf 10^{-4} und 10^{-3} mol/l führt zu keiner weiteren Beeinträchtigung des Folsäure-Transfers von der Mucosa- zur Serosaseite, sondern zu einem leichten Anstieg, sodaß im Vergleich mit der Kontrollgruppe kein Unterschied mehr feststellbar ist. Bei noch höheren Phenobarbital-Konzentrationen im Bereich von 10^{-2} mol/l kommt es dann nicht nur zu einer drastischen Hemmung der Translokation von Folsäure; auch die Wasser- und Glucose-Resorption durch die Darmwand wird signifikant gehemmt (Abb. 15, Tab. XII).

Geht man in diesem Zusammenhang davon aus, daß die antikonvulsive Erhaltungsdosis für Phenobarbital beim erwachsenen Menschen im Bereich von 100 - 300 mg pro Tag festzulegen ist, so ergeben sich im Darmlumen unter Berücksichtigung von 1 bzw. 2 Liter Darmflüssigkeit aktuelle Phenobarbital-Konzentrationen im millimolaren Bereich; Konzentrationen, die in vitro, an isolierten, nicht durchbluteten Darmsegmenten der Ratte keine signifikante Beeinträchtigung des Folsäure-Transfers verursachen. Da jedoch im Rahmen dieser Arbeit erstmals der experimentelle Nachweis der

Hemmwirkung von Phenobarbital auf die Folsäure-Resorption statistisch signifikant nachgewiesen werden konnte, kann angesichts der Speziesunterschiede nicht ausgeschlossen werden, daß Phenobarbital auch beim Menschen im therapeutischen Dosenbereich eine Blockade der Folsäure-Resorption bewirkt.

4.3.2 Einfluß von Phenobarbital auf den Glucose- und Wasser-Transport durch die Darmwand

Interessanterweise hat sich gezeigt, daß Phenobarbital offensichtlich nicht nur Auswirkungen auf den Transportvorgang von Folsäure zeigt, sondern, daß auch die Resorption von Glucose und Wasser in Gegenwart von Phenobarbital verändert abläuft. Während 10^{-4} mol/l Phenobarbital zu einer statistisch signifikanten Steigerung des Glucose-Transfers von M → S bei 37°C und 25°C führt, bewirken 10^{-2} mol/l eine drastische Verminderung der Glucose- und Flüssigkeits-Resorption um etwa 94%.

Diese Befunde stehen im Einklang mit denjenigen in der Literatur, die besagen, daß Barbiturate ganz generell mit dem Zellstoffwechsel interferieren (2,13,18) und z.B. eine Verminderung der metabolischen Aktivität bewirken, die u.a. in der Abnahme des O_2-Verbrauchs im ZNS erkennbar wird (18).

4.3.3 Schlußfolgerungen

Angesichts der vorliegenden Resultate kann Folgendes über den Mechanismus eines Phenobarbital-induzierten Folsäure-Mangel festgehalten werden:

Beim Einfluß von Phenobarbital auf die Resorption von Folsäure, zeichnet sich offensichtlich eine Zweiphasenwirkung ab; d.h. 1. Abfall zwischen Kontrollen und niedrigen Phenobarbital-Konzentrationen auf etwa das gleiche Niveau wie bei der Temperatursenkung auf 25°C. (Hierbei handelt es sich um Phenobarbital-Konzentrationen im millimolaren Bereich, wie sie auch bei einer

antikonvulsiven Therapie im Magendarmtrakt des Menschen erzielt werden). 2. bei hohen Phenobarbital-Konzentrationen, wie sie allerdings unter therapeutischen Bedingungen nicht vorkommen, ist der Abfall nach Null tendierend.

KAPITEL 5. MATERIAL UND METHODEN

5.1 Material

5.1.1 Versuchstiere

Weiblichen Wistar Ratten (200 - 280 g KG) der Firma Gassner, Sulzfeld, wurde 18 Stunden vor Versuchsbeginn das Futter (Höveler- Standard- Diät) der Firma Höveler, Langenfeld- Immigrath, entzogen. Während dieser Zeit hatten die Tiere freien Zugang zum Trinkwasser.

5.1.2 Substanzen

5.1.2.1 Pteroylmonoglutaminsäure (Folsäure)

3',5',7,9-^{3}H- Pteroylmonoglutaminsäure als Traägersubstanz diente Pteroylmonoglutaminsäure (krist. pharm.) der Firma Serva; Molekülmasse 441,4 Dalton, Artikel - Nr. 21700. 3',5',7,9- ^{3}H-Pteroylmonoglutaminsäure (spezifische Aktivität 40 - 52 Ci/mmol bzw. 90 und 117 mCi/mg) wurde durch die Firma Amershan Buchler, Braunschweig bezogen.

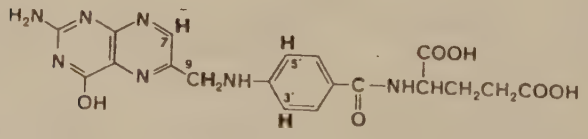

Abb.16: Strukturformel von Pteroylmonoglutaminsäure

5.1.2.2 Phenobarbital

5- Ethyl-5 - phenylbarbitursäure, Molekülmasse 232,24 Dalton wurde freundlicherweise durch die Firma Bayer, Wuppertal zur Verfügung gestellt.

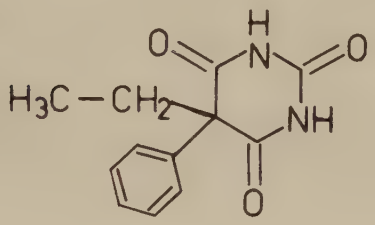

Abb. 17: Strukturformel von Phenobarbital

5.1.2.3 Diphenylhydantoin

5,5- Diphenyl- 2,4- imidazolindion, Molekülmasse 252,26 Dalton stellte die Firma Nordmark, Uetersen zur Verfügung.

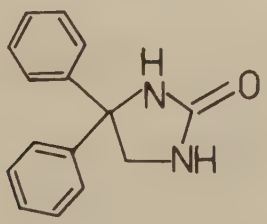

Abb. 18: Strukturformel von Diphenylhydantoin

5.1.2.4 Salazosulfapyridin

4- Hydroxy- 4'-(2-pyridylsulfamoyl) azobenzol-3-carbonsäure, Molekülmasse 398,39 Dalton überließ uns dankenswerterweise die Firma Henning, Berlin.

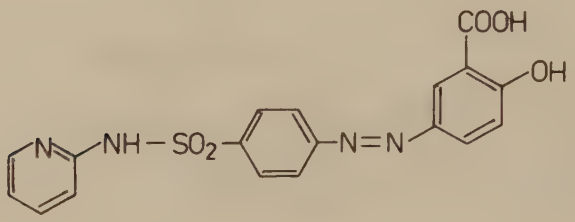

Abb. 19: Strukturformel von Salazosulfapyridin

5.1.2.5 Guar Gum

Guar Mehl wurde durch die Firma Roeper, Hamburg bezogen; der wasserlösliche Anteil (Guaran) betrug 85% und bestand zu 65% aus Mannose und 35% Galaktose (67).

5.2 Untersuchungsmethoden zur Resorption von ^{3}H-Folsäure

5.2.1 Inkubation isolierter, nicht durchbluteter Darmsegmente nach der Methode von Wilson und Wiseman

Die Darmabschnitte (Duodenum, Jejunum, Ileum, Colon) wurden in zwei verschiedenen Versuchsanordnungen eingesetzt:

a) als evertierte Darmsegmente nach der Methode von Wilson und Wiseman (88) zur Messung der Folsäure- Nettobewegung von der Mucosa- zur Serosaseite (M → S) sowie zur Bestimmung der Gleichgewichts- einstellung nach beidseitigem Folsäure-Angebot auf der Mucosa- und

Serosaseite.

b) als nicht evertierte Darmabschnitte zur Messung der Folsäure-Nettobewegung von der Serosa- zur Mucosaseite (S → M).

Die Präparation der Darmsegmente erfolgte in Äthernarkose. Den Versuchstieren wurde von der Pylorusregion nach distal (Duodenum), von der Flexura duodenojejunalis nach distal (Jejunum), von der Valvula ileocoecalis nach proximal (Ileum) bzw. distal (Colon) Darmstücke entnommen, die in eiskalter, mit Carbogen (95% O_2, 5% CO_2) gesättigter Tyrodelösung gespült wurden. Die Darmstücke wurden auf einen PVC- Stab (3mm Ø) aufgezogen und umgestülpt (everted), so daß sich das Mucosaepithel außen und das Serosaepithel innen befand, anschließend an einem Ende fest abgebunden und mit Hilfe von Raschig-Ringen beschwert. Am anderen Ende wurde zunächst eine lockere Ligatur gelegt, 0,8 ml Inkubationsflüssigkeit (Innenlösung) injiziert, fest verschlossen und in 10 ml begaste Tyrodelösung (Außenlösung) eingehängt. Die Länge der Darmsäckchen betrug durchschnittlich 5 cm. Entsprechend der jeweiligen Fragestellung wurde ^{3}H-markierte Folsäure nur in der Außenlösung oder gleichzeitig in beiden Inkubationsflüssigkeiten angeboten. Die Inkubationszeiten, Temperaturen sowie die Folsäure- Konzentrationen sind in den graphischen Abbildungen und Tabellen aufgeführt.

5.2.1.1 Inkubationsmedium

Die Darmsegmente wurden in einer Tyrodelösung folgender Zusammensetzung inkubiert: NaCl 8,0 g; KCl 0,2 g; $CaCl_2 \times 2\ H_2O$ 0,2 g; $MgCl_2 \times H_2O$ 0,1 g; $NaHCO_3$ 1,0 g; NaH_2PO_4 0,05 g; Glucosemonohydrat 30,0 g/l. Während der gesamten Versuchsdauer wurde die Inkubationslösung mit Carbogen (95% O_2, 5% CO_2) begast. Der pH- Wert der Lösung lag zwischen 6,9 und 7,2.

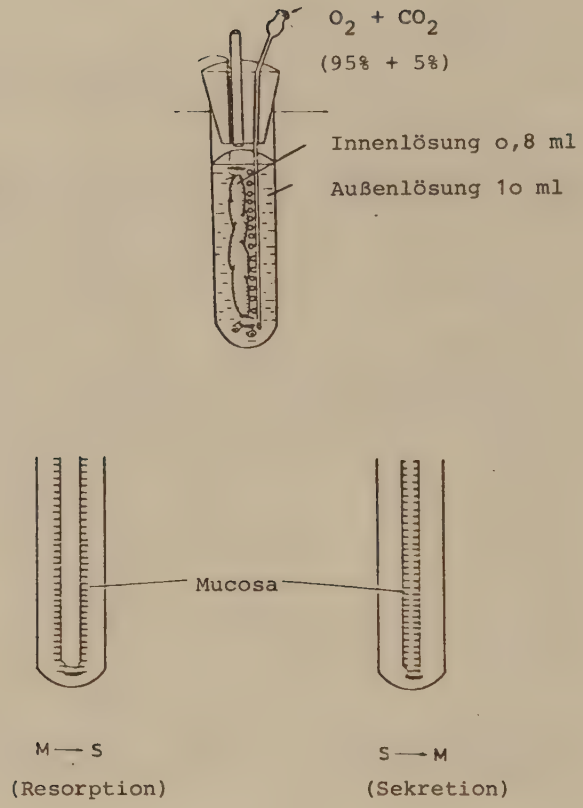

Abb. 20
Versuchsanordnung für evertierte und nicht evertierte Darmpräparate nach der Methode von Wilson und Wiseman (88) sowie schematische Darstellung der Transportrichtung

5.2.1.2 Aufarbeitung der Darmsegmente

Nach Versuchsende wurde die Länge des Darmsäckchens bestimmt sowie die Volumina der Innen- und Außenlösung gravimetrisch ermittelt. Für die Bestimmung der ^3H- markierten Folsäure-Aktivität, der Glucose und Elektrolyte in den Inkubationsflüssigkeiten (Innen- und Außenlösung) wurde je 0,1 ml entnommen. Zur Messung der ^3H- Radioaktivität im Darmgewebe wurden die entleerten Darmsegmente der Länge nach aufgeschnitten, mit isotonischer Kochsalzlösung gespült und durch Abtupfen auf Filterpapier sorgfältig von Schleim und Flüssigkeit gereinigt. Sodann wurde das gesamte Darmsegment gewogen, anschließend ein etwa 0,1 g schweres Darmstückchen herausgeschnitten, mit 0,5 ml Soluene 350 (einer quaternären Ammoniumhydroxidlösung in Toluol) der Firma Packard versetzt und 2 Tage lang bei Raumtemperatur gelöst. Nach dieser Zeit hatte die durch Soluene verursachte Chemoluminezens einen konstanten Wert erreicht, der bei der Berrechnung der ^3H- Radioaktivität berücksichtigt und korrigiert wurde.

5.2.2 Durchströmung isolierter, nicht durchbluteter Darmsegmente nach der Methode von Fisher und Parsons.

Die Präparation der Darmsegmente (Duodenum, Jejunum, Ileum), die durchschnittlich 10 cm lang waren, erfolgte wie oben beschrieben. An beiden Enden der Darmsegmente wurden Glasansatzröhrchen eingebunden und anschließend mit 20 ml physiologischer Kochsalzlösung durchspült. Erst dann wurden die Darmabschnitte von der Blutversorgung abgetrennt und in die Durchströmungsanordnung eingehängt.

Die Durchströmung der isolierten, nicht durchbluteten Darmabschnitte erfolgte nach der von Fisher und Parsons (28) entwickelten und von Rummel und Stupp (74) modifizierten Methode. Dabei wurde das Darmlumen mit 50 ml Tyrodelösung durchströmt. Die Zusammensetzung der Tyrodelösung war identisch mit derjenigen, die auch bei den " everted sac-Versuchen " eingesetzt wurde.

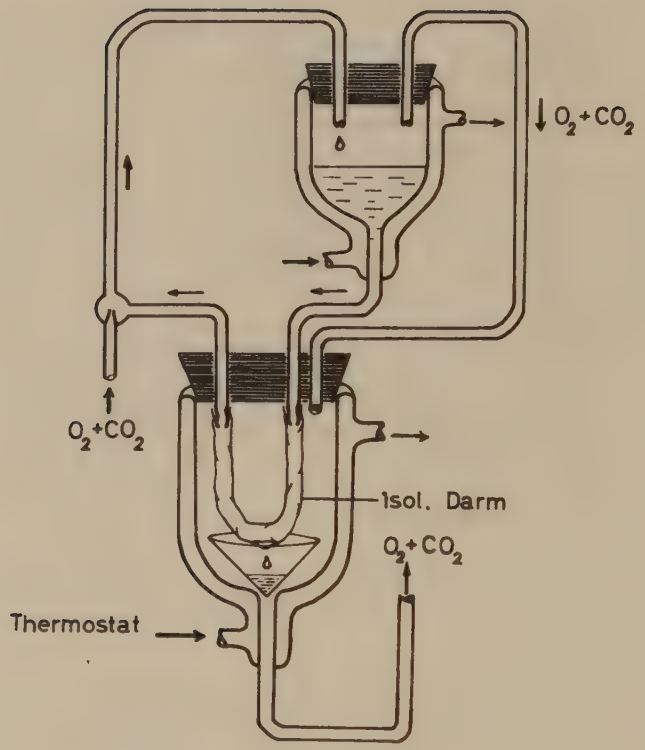

Abb. 21
Versuchsanordnung nach der Methode von Fisher und Parsons (28) modifiziert durch Rummel und Stupp (74)

Während der gesamtem Versuchszeit wurde die Perfusionslösung mit einem Gasgemisch aus 95% O_2 und 5% CO_2 belüftet und in Zirkulation gehalten. Der pH- Wert der Durchströmungsflüssigkeit, die Perfusionsdauer sowie die Folsäure-Konzentrationen können den graphischen und tabellarischen Darstellungen entnommen werden.

Die während der Inkubationszeit durch die Darmwand abtropfende Flüssigkeit (Resorbat) wurde aufgefangen und gesammelt. Nach Versuchsende wurde die Länge sowie das Gewicht der Darmsegmente ermittelt; das Volumen des Resorbates bestimmt und anschließend die Folsäure-Aktivität sowie die Konzentration der Glucose und der Elektrolyte (Na^+, K^+, Ca^{++}) ermittelt.

Die Aufarbeitung der Darmabschnitte erfolgte in gleicher Weise wie bereits in Kapitel 5.2.1.2. beschrieben.

5.2.3 Beurteilung der Leistungsfähigkeit isolierter, nicht durchbluteter Darmsegmente in vitro.

5.2.3.1 Isoliert durchströmte Darmsegmente nach der Methode von Fisher und Parsons.

Für die Überprüfung der physiologischen Leistungsfähigkeit isolierter, durchströmter Darmabschnitte nach der Methode von Fisher und Parsons (28), können als verläßliche Beurteilungskriterien herangezogen werden:

a) der Bergauftransport der Glucose sowie

b) die Netto-Wasserverschiebung - als eine Folge des aktiven Natriumtransportes -

von der Mucosa- zur Serosaseite.

5.2.3.2 Evertierte und nicht evertierte Darmsegmente nach der Methode von Wilson und Wiseman.

Die Transportleisung der nach Wilson und Wiseman (88) präparierten Darmsegmente läßt sich vor allem durch die Errichtung eines Konzentrationsgradienten für Glucose zwischen der Mucosa- und Serosaseite beurteilen. Im Gegensatz zu den isolierten, nicht durchbluteten Darmsegmenten nach Fisher und Parsons, kann die Netto-Wasserverschiebung bei den Darmsäckchen nicht als geeignetes Maß herangezogen werden, da die Wasserbewegung vom variablen hydrostatischen Druck im Inneren der Darmsäckchen abhängig ist.

Die in dieser Arbeit ermittelten Werte für die Wasser- und Glucose-Resorption beider Versuchsmethoden sind in Tabelle II und XII aufgeführt und stehen in guter Übereinstimmung mit denjenigen in der Literatur (29,32,42,51).

5.2.3.3 Wasser- und Glucose-Transport in Gegenwart von Phenobarbital.

Um eine Beeinflussung physiologischer Transportprozesse durch Phenobarbital abschätzen zu können, wurde die Wasser- und Glucose-Resorption am isoliert, durchströmten Jejunum in Abhängigkeit von steigenden Phenobarbital-Konzentrationen untersucht. Wie aus Tab. XII im Anhang hervorgeht, muß erst bei einer Phenobarbital-Konzentration von 10^{-2}mol/l mit einer deutlichen Hemmung der Wasserbewegung zur Serosaseite gerechnet werden. Betrachtet man die transportierte Menge an Glucose pro cm Darm in Abhängigkeit von der Phenobarbital-Konzentration, fällt auf, daß Phenobarbital bei einer Konzentration von 10^{-4}mol/l eine statistisch signifikante Steigerung des Glucose-Transfers bei 25°C und 37°C bewirkt, während bei 10^{-2}mol/l ebenfalls eine massive Hemmung des Glucose-Transportes zu verzeichnen ist (Tab. XII).

5.2.3.4 Wasser- und Glucose-Resorption nach chronischer Verabreichung von Phenobarbital und Diphenylhydantoin.

Im Zusammenhang mit der Klärung der Frage nach den Auswirkungen einer chronischen Applikation von Phenobarbital bzw. Diphenylhydantoin auf die Folsäure- Resorption, wurde der Einfluß beider Pharmaka auf die Wasser- und Glucose-Resorption isoliert, durchströmter Darmabschnitte von Ratten untersucht, die chronisch mit Phenobarbital bzw. Diphenylhydantoin vorbehandelt wurden.

Dazu wurde jeweils einer Gruppe von Versuchstieren täglich über einen Zeitraum von 6 Wochen 50 mg/ kg KG Phenobarbital bzw. 0,5 g/ kg KG Diphenylhydantoin in Guar Gum verabreicht. Die Kontrollgruppe erhielt täglich 50 mg/kg KG Guar Gum. Die verabfolgte Dosis an Phenobarbital war so bemessen, daß eine regelmäßige Nahrungsaufnahme der Versuchstiere gewährleistet war. Nach Beendigung der Vorbehandlung bestand kein Unterschied zwischen den Tiergewichten der mit Phenobarbital bzw. Diphenylhydantoin behandelten Gruppe verglichen mit der Guar-Gum-Kontrollgruppe. In Tab. XIII im Anhang sind die Ergebnisse dieser Untersuchung zusammengefaßt. Dabei fällt auf, daß die Netto-Wasserverschiebung von der Lumen- zur Blutseite in allen drei geprüften Darmabschnitten (Duodenum, Jejunum, Ileum) weder durch die beiden Pharmaka (Phenobarbital / Diphenylhydantoin) noch durch Guar Gum beeinträchtigt wird. Hingegen läßt sich für den Glucose-Transfer im terminalen Ileum zeigen, daß es in Gegenwart von Phenobarbital bzw. Diphenylhydantoin zu einer Steigerung der transportierten Menge von Glucose aus dem Lumen in Richtung Blut kommt. Während unter Kontrollbedingungen 0,8 µMol Glucose / cm Darm zur Blutseite befördert wird, beobachtet man unter Phenobarbital eine Erhöhung der transportierten Glucosemenge um das 1,7- fache bzw. 2,4- fache für Diphenylhydantoin. Die Steigerung der Transportrate in Gegenwart von Diphenylhydantoin ist statistisch signifikant ($p \leq 0{,}02$).

5.3 Analytische Methoden

5.3.1 Glucosebestimmung

Glucose wurde enzymatisch mit Hilfe der Glucose-Oxydase (GOD), der Peroxydase (POD) sowie dem Chromogen ABTS (2,2'-Azino-di-(3-ethylbenzthiazolin-sulfonsäure- (6))-diammoniumsalz) bestimmt. (Biochemica-Test-Combination, GOD-Perid^{R} Methode der Firma Boehringer, Mannheim). Die photometrische Messung erfolgte mit einem Eppendorf Photometer 1101 M bei 578 nm und d= 1 cm.

5.3.2 Elektrolytbestimmung

Die Messung der Elektrolyte Na^{+}, K^{+},Ca^{++} wurde mit dem Eppendorf Flammenphotometer durchgeführt.

5.3.3 pH- Wert Bestimmung

Die Bestimmung der pH- Werte wurde mit dem pH-Meter E 512 der Firma Metrohm AG, Schweiz vorgenommen. Zum Eichen der Glaselektrode wurden Eichpuffer der Firma E. Merck, Darmstadt benutzt. Die pH-Messungen wurden bei Raumtemperatur durchgeführt.

5.3.4 Messung der ^{3}H- Radioaktivität.

Messungen der ^{3}H- Radioaktivität wurden mit dem Flüssigkeitsszintillationsspektrometer Betaszint BF 5000 der Firma Berthold, Wildbad unter Verwendung einer Szintillationsflüssigkeit auf Dioxanbasis nach Bray (65) vorgenommen: Naphthalin 60,0 g; 1,4-Di -2-(5- phenyloxazolyl) benzol 0,2 g; Diphenyloxazol 4,0 g/l; Methanol 100 ml; Aethylenglycol 20 ml; Dioxan 830 ml/l. Jeweils 0,1 ml der zu messenden Probe wurde in Kunststoff-behälter der Firma Pachard gegeben und 9 ml Szintillationsflüssigkeit zugesetzt. Mit Hilfe von Standardproben wurde die gemessene ^{3}H-

Folsäure-Aktivität in Prozent des Angebotes umgerechnet. Quenchkorrektur erfolgte nach der "Kanal-Verhältnis-Methode".

5.3.5 Dünnschichtchromatographische Untersuchungen

Orientierende dünnschichtchromatographische Untersuchungen zur Überprüfung einer möglichen metabolischen Umwandlung der Folsäure beim Durchtritt durch die Darmwand wurden mit dem Laufmittel n-Butanol : Pyridin : Wasser (V/V) (1: 1: 1) vorgenommen. Dabei hat sich gezeigt, daß während der Darmpassage keine nachweisbaren metabolischen Veränderungen des Folsäure-Moleküls in den geprüften Darmabschnitten (Duodenum, Jejunum, Ileum) zu beobachten ist. (Tab.I im Anhang). Etwa 98% der zu Versuchsbeginn eingesetzten Radioaktivität kann nach Passage der geprüften Darmabschnitte dem inaktiven Peak der Referenzsubstanz zugeordnet werden. Die restliche Radioaktivität ist über gesamte DC-Platte verteilt und keinem inaktiven Peak zuzuordnen.

5.3.6 Statistische Methoden.

Die in den Tabellen angegebenen Daten geben den Mittelwert ($\bar{x}$) aus n Einzelwerten sowie den mittleren Fehler der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$) an. Für die Berechnung der Irrtumswahrscheinlichkeit p wurde der t-Test nach Student (85) herangezogen.

1. Arrhenius, S.A.
Über die Geschwindigkeit bei der Inversion von Rohrzucker durch Säuren.
Z. Phys. Chem. 4: 226-248 (1889)

2. Bain, J.A.
Enzymatic aspects of barbiturate action
Fred. Proc. 11: 653-658 (1952)

3. Baugh, C.M., C.L. Krumdieck, H.J. Baker and C.E. Butterworth
Studies on the absorption and metabolism of folic acid
I. Folate absorption in the dog after exposure of isolated intestinal segments to synthetic pteroylpolyglutamates of various chain length
J. Clin. Investig. 50: 2009-2021 (1971)

4. Baugh, C.M. and C.L. Krumdieck
Effects of phenytoin on folic acid conjugases in man
Lancet II: 519-521 (1969)

5. Benn, A., C.H.J. Swan, W.T. Cooke, J.A. Blair, A.J. Matty and M.E. Smith
Effect of intraluminal pH on absorption of pteroylmonoglutamic acid
Brit. Med. J. 1: 148-150 (1971)

6. Bernstein, L.H., S. Gutstein, S. Weiner and G. Efron
The Absorption and Malabsorption of Folic Acid and Its Polyglutamates
The American J. Med. 48: 570-579 (1970)

7. Bernstein, L.H., S. Gutstein and S.V. Weiner
Gamma glutamyl carboxypeptidase (conjugase), the folic acid-releasing enzyme of intestinal mucosa
The Am. J. Clin. Med. 23: 919-925 (1970)

8. Binder, H.J. and D. Whiting
Active pteroylmonoglutamate transport by jejunal mucosa
Clin. Res. 23: 391A (1975)

9. Blair, J.A., I.T. Johnson and A.J. Matty
Absorption of folic acid by everted segments of rat jejunum
J. Physiol. London 236: 653-661 (1974)

10. Blair, J.A., I.T. Johnson and A.J. Matty
Aspects of intestinal folate transport in the rat
J. Physiol. London 256: 197-208 (1976)

11. Blair, J.A. and A.J. Matty
Acid microclimate in intestinal absorption
Clin. Gastroenterology 3: 188-199 (1974)

12. Bray, J.A.
A simple efficient liquid scintillator for counting aqueous solutions in a liquid scintillation counter
Analytic Biochem. 1: 279-285 (1960)

13. Brody, T.M. and J.A. Bain
Barbiturates and oxidative-phosphorylation
J. Pharmacol. Exp. Ther. 110: 148-156 (1954)

14. Burgen, A.S.V. and N.J. Goldberg
Absorption of folic acid from the small intestine of the rat
Brit. J. Pharmacol. 19: 313-320 (1962)

15. Butterworth, C.E., C.M. Baugh and C. Krumdieck
A study of folate absorption and metabolism in man utilizing carbon-14-labeled polyglutamates synthesized by the solid phase method
J. Clin. Investig. 48: 1131-1142 (1969)

16. Chanarin, I., J. Laidlaw, L.W. Loughridge and D.L. Mollin
Megaloblastic Anemia Due to Phenobarbitone
The Anticonvulsant Action of Therapeutic Doses of Folic Acid
Brit. Med. J. 1: 1099-1102 (1960)

17. Chanarin, I. and J. Perry
Evidence for reduction and methylation of folate in the intestine during normal absorption
Lancet II: 776-778 (1969)

18. Cohen, P.J.
Effect of anesthetics on mitochondrial function
Anesthesiology 39: 153-164 (1973)

19. Crozier, W.J. in:
Enzyme Kinetics (Optimum pH, temperature and activation energy) chap. IV (E.A. Davis)
Comprehensive Biochemistry
(Florkin, M. and E.H. Stotz, Eds.)
12: 118-121
Elsevier Publishing Company
Amsterdam, London, New York (1964)

20. Dahlke, M.B. and E. Mertens-Roesler
Malabsorption of Folic Acid due to Diphenylhydantoin
Blood 30: 341-351 (1967)

21. Dencker, H., M. Jägerstad and A.-K. Westesson
Portal and peripheral plasma folates after ingestion of folic acid
Acta Hepato-Gastroenterol. 23: 140-143 (1976)

22. Dhar, G.J., C. Gay and I.H. Rosenberg
Characterization of the individual components of intestinal folate transport
Gastroenterology 72: A-26/1049 (1977) (abstract)

23. Dhar, G.J., J. Selhub and I.H. Rosenberg
Azulfidine Inhibition of folic acid absorption: Conformation of a specific saturable transport mechanism
Gastroenterology 70: 878 (1976)

24. Documenta Geigy
Wissenschaftliche Tabellen
Hrsg. J.R. Geigy A.G. Pharma, Basel
7. Auflage, 429ff (1968)

25. Doe, W.F., A.V. Hoffbrand, P.I. Reed and J.M. Scott
Jejunal pH and folic acid
Brit. Med. J. 1: 669-670

26. Druskin, M.S., M.H. Wallen, L. Bonagura
Anticonvulsant-Associated Megaloblastic Anemia
New Engl. J. 267: 483-485 (1962)

27. Elsborg, L.
Folic acid: A new approach to the mechanism of its intestinal absorption
Danish Medical Bulletin 21: 1-11 (1974)

28. Fisher, R.B. and D.S. Parsons
A preparation of surviving rat small intestine for the study of absorption
J. Physiol. (London) 110: 26-46 (1949)

29. Forth, W., E. Furukawa and W. Rummel
Intestinale Resorption von Herzglykosiden in vitro und in vivo
Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmakol. 262, 53-72 (1969)

30. Forth, W. and W. Rummel
Beziehungen zwischen dem Durchtritt des Eisens durch die Darmwand und seiner Bindung im Gewebe
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. 264: 230-232 (1969)

31. Forth, W. and W. Rummel
Iron absorption
Physiol. Rev. 53: 724-792 (1973)

32. Forth, W. and W. Rummel
Gastrointistinal absorption of heavy metals
pp. 666in:
I Ept, section 39b
Pharmacology of intestinal absorption
Gastrointestinal absorption of drugs Vol. II
(W. Forth and W. Rummel, Eds.)
Pergamon Press, Oxford (1975)

33. Franklin, J.L. and I.H. Rosenberg
Impaired folic acid absorption in inflammatory bowel disease; effects of salicylazosulfapyridine (azulfidine)
Gastroenterology 64: 517-525 (1973)

34. Furlanut, M., P. Benetello, G. Testa and A. DaRonch
The Effects of Dose, Age and Sex on the Serum Levels of Phenobarbital and Diphenylhydantoin in Epileptic Patients
Pharm. Res. Comm. 10: 85-89 (1978)

35. Gerson, C.D., G.W. Hepner, N. Brown, N. Cohen, V. Herbert and H.D. Janowitz
Inhibition by diphenylhydantoin (dilantin) of folic acid absorption in man
J. CLin. Invest. 49: 33A (1970)

36. Gerson, C.D., G.W. Hepner, N. Brown, N. Cohen, V. Herbert an H.D. Janowitz
Inhibition by diphenylhydantoin of folic acid absorption in Man
Gastroenterology 63: 246-251 (1972)

37. Girdwood, R.H. and J.A.R. Lenman
Megaloblastic anemia occuring during primidone therapy
Brit. Med. J. 1: 146 (1956)

38. Halsted, C.H., K. Bhanthumnavin and E. Mezey
Jejunal uptake of tritiated folic acid in the rat studied by in vivo perfusion
J. Nutr. 104: 1674-1680 (1974)

39. Halsted, C.H.
Intestinal absorption and malabsorption of folates
Ann. Rev. Med. 31: 79-87 (1980)

40. Hanes, C.S.
Studies on Plant Amylases
I. The Effect of starch Concentration upon the velocity of Hydrolysis by the Amylase of Germinated Barley
Biochem. J. 26: 1406-1421 (1932)

41. Hawkins, C.F. and M.J. Meynell
Megaloblastic anemia due to phenytoin sodium
Lancet II: 737 (1954)

42. Hennning, C.H.
Zum Mechanismus der Sekretion von Thallium-Ionen in den Gastrointestinaltrakt; Untersuchungen an Ratten
Dissertation der Abteilung für Biologie der Ruhr-Universität Bochum (1979)

43. Hepner, G.W., C.C. Booth, A.V. Hoffbrand, J. Cowan and D.L. Mollin
Absorption of crystalline folic acid in man
Lancet II: 302-306 (1968)

44. Hepner, G.W.
The absorption of pteroylglutamic (folic) acid in rats
Brit. J. Haematol. 16: 241-249 (1969)

45. Hepner, G.W., L.M. Aledort, C.D. Gerson, N. Cohen, V. Herbert and H.D. Janowitz
Inhibition of intestinal ATPase by diphenylhydantoin azetazolamide
Clin. Res. 18: (1970)

46. Hoffbrand, A.V. and T.F. Necheles
Mechanism of folate deficiency in patients receiving phenytoin
Lancet II: 528-530 (1968)

47. Hoffbrand, A.V. and T.J. Peters
Recent advances in Knowledge of clinical and biochemical aspects of folate
Schweiz. Med. Wochenschr. 100: 1954-1960 (1970)

48. Izak, J., K. Galevski, N. Grossowicz, M. Jablonska and M. Rachmilewitz
Studies on folic acid absorption in the rat
II. The absorption of crystalline pteroylglutamic acid from selected small intestine segments
Digest. Diseases 17: 599-602 (1972)

49. Kiil, J., M. Jägerstad and L. Elsborg
The role of liver passage for conversion of pteroyl-monoglutamate and pteroyltriglutamate to active folate coenzyme
Internat. J. Vit. Nutr. Res. 49: 296-306 (1979)

50. Klipstein, F.A.
Subnormal serum folate and macrocytosis associated with anticonvulsant drug therapy
Blood 23: 68-86 (1964)

51. Komp, B.
Intestinale Resorption und metabolische Veränderung während des Resorptionsvorganges von ^{125}J-(Ipodat-Na) im Jejunum der Ratte
Inaugural-Dissertation, Fachbereich Biochemie und Pharmazie der Johann Wolfgang Universität
Frankfurt (1978)

52. Kumamoto, J., J.K. Raison and J.M. Lyons
Temperature "Breaks" in Arrhenius Plot:
A thermodynamic consequence of a phase change
J. Theor. Biol. 31: 47-51 (1971)

53. Lei, L.H., M.L. Lucas and J. Blair
The influence of pH, low sodium ion concentration and methotrexate on the jejunal surface pH: a model for folic acid transfer
Biochem. Soc. Trans. 5: 149-152 (1977)

54. Lucas, M.L., J.A. Blair, B.T. Cooper and W.T. Cooke
Relationship of the acid micro-climate in rat and human intestine to malabsorption
Biochem. Soc. Trans. 4: 154-156 (1976)

55. Melikian, V., A. Paton, R.J. Leeming and H. Portmann-Graham
Site of reduction and methylation of folic acid in man
Lancet II: 955-957 (1971)

56. Meynell, M.J.
Megaloblastic anemia in anticonvulsant therapy
Lancet I: 487 (1966)

57. Neubauer, C.
Mental Deterioriation in Epilepsy to Folate Deficiency
Brit. Med. J. 2: 759 (1970)

58. Olinger, E.J., J.R. Bertino and H.J. Binder
Intestinal folate absorption
II. Conversion and retention of pteroylmonoglutamate by jejunum
J. Clin. Investig. 52: 2138-2145 (1973)

59. Permezel, N.C. and D.D.A. Webling
The length and mucosal surface area of the small and large gut in young rats
J. Anat. 108: 295-296 (1971)

60. Perry, J. and I. Chanarin
Observation of folate absorption with particular reference to folate polyglutamate and possible inhibitors to its absorption
Gut 13: 544-550 (1972)

61. Reisenauer, A.M., C.L. Krumdieck and C.H. Halsted
Folate conjugase: Two separate activities in human jejunum
Science 198: 196-197 (1977)

62. Reynolds, E.H., J.F. Hallpike, B.M. Phillips and D.M. Matthews
Reversible absorptive defects in anticonvulsant megaloblastic anemia
J. Clin. Pathol. 18: 593-598 (1965)

63. Reynolds, E.H., G. Milner, D.M. Matthews and I. Chanarin
Anticonvulsant Therapy, Megaloblastic Haemopoiesis and Folic Acid Metabolism
Quart. J. Med. XXXV: 521-537 (1966)

64. Reynolds, E.H., I. Chanarin, G. Milner and D.M. Matthews
Anticonvulsant Therapy, Folic Acid and Vitamin B_{12} Metabolism and Mental Symptoms
Epilepsia 7: 261-270 (1966)

65. Reynolds, E.H.
Mental effects of anticonvulsant, and folic acid metabolism
Brain 91: 197-214 (1968)

66. Reynolds, E.H.
Anticonvulsant Drug, Folic Acid Metabolism, Fit Frequency and Psychiatric Illness
Psychiat. Neurol. Neurochir. 74: 167-174 (1971)

67. Römpp Chemie Lexikon
Hrsg. O.-A. Neumüller
Frankh'sche Verlagsbuchhandlung Stuttgart
II: 1354 (1973)

68. Rose, R.C., M.J. Koch and D.L. Nahrwold
Folic acid transport by mammalian small intestine
Am. Physiol. Soc. 235: E678-E685 (1978)

69. Rose, R.C.
Water-Soluble vitamin absorption in intestine
Annual Rev. of Physiol. 42: 157-171 (1980)

70. Rosenberg, I.H. and R.R. Streiff
Intestinal Folic Acid Conjugase
Gastroenterology 52: 1117 (1967)

71. Rosenberg, I.H., H.A. Godwin, R.R. Streiff and W.B. Castle
Impairment of intestinal deconjucation and dietary folate: a possible explanation of the megaloblastic anemia associated with phenytoin therapy
Lancet II: 530-532 (1968)

72. Rosenberg, I.H. and H.A. Godwin
The digestion and absorption of dietary folate
Gastroenterology 60: 445-463 (1971)

73. Rosenberg, I.H.
Absorption and Malabsorption of Folates
Clinics in Haematology 5: 589-618 (1976)

74. Rummel, W., H.F. Stupp
Der Einfluß von Kalium und Calcium auf die Salz-, Glucose-und Wasserresorption des isolierten Dünndarmes.
Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 240: 72-92 (1960)

75. Selhub, J., G.J. Dhar and I.H. Rosenberg
Inhibition of folate enzymes by sulfasalazine
J. Clin. Invest. 61: 221-224 (1978)

76. Smith, M.E., A.J. Matty and J.A. Blair
The transport of pteroylglutamic acid across the small intestine of rat
Biochimica et Biophysica Acta 219: 37-46 (1970)

77. Smith, M.E., A.J. Matty and J.A. Blair
The transport of folic acid (pteroyl-L-monoglutamic acid) across the intestine of the rat
Gut II: 368 (1970)

78. Smith, M.E.
The uptake of pteroylglutamic acid by the rat jejunum
Biochimica et Biophysica Acta 298: 124-129 (1973)

79. Spencer, R.P. and T.M. Bow
In vitro transport of radiolabeled vitamins by the small intestine
J. Nucl. Med. 5: 251-258 (1964)

80. Streiff, R.R. and B. Greene
Drug inhibition of folate conjugase
Clin. Res. 18: 418 (1970)

81. Strum, W., P.F. Nixon, J.B. Bertine and H.J. Binder
Intestinal folate absorption
J. Clin. Invest. 50: 1910-1916 (1971)

82. Tisman, G.
Dilantin and Folic Acid Deficiency
Ann. Intern. Med. 70: 233 (1969)

83. Turner, J.B. and D.E. Hughes
The absorption of some B-group vitamins by surviving rat intestine preparations
Quart. J. Exptl. Physiol. 47: 107-123 (1962)

84. Waxman, S., J.J. Corcino and V. Herbert
Drugs, toxins and dietary amino acids affecting vitamin B_{12} or folic acid absorption or utilization
Am. J. Med. 48: 599-608 (1970)

85. Weber, E.
Grundriß der biologischen Statistik
7. Auflage, Gustav-Fischer Verlag, Stuttgart (1972)

86. Whitehead, V.M. and B.A. Cooper
Absorption of unaltered folic acid from the gastro-intestinal tract in man
Brit. J. Haematology 13: 679-689 (1967)

87. Whitehead, V.M., R.F. Pratt, A. Vialett and B.A. Cooper
Intestinal conversion of folic acid to 5-methyl-tetrahydrofolate in man
Brit. J. Haematology 22: 63-72 (1972)

88. Wilson, T.H. and G. Wiseman
The use of sacs of inverted small intestine for the study of transferance of substances from the mucosal to the serosal surface
J. Physiol. (London) 123: 116-125 (1954)

89. Yoshino, T.
The clinical experimental studies on the metabolism of folic acid using tritiated folic acid
J. Vitaminol. 14: 35-48 (1968)

7. TABELLENANHANG

Tab. I

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen zur metabolischen Umwandlung von Folsäure während der Darmpassage an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Duodenum-, Jejunum- und Ileumsegmenten.

Methode: Fisher u. Parsons (28), modifiziert durch Rummel u. Stupp (74)
Perfusionsdauer: 120 min.
^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn der Perfusionslösung in einer Konzentration von 2×10^{-9} mol/l (≙ 42200 Ipm/ml) zugegeben. Am Versuchsende wurde die ^{3}H- Radioaktivität im Resorbat und die des Darmgewebes gemessen und in Prozent der wiedergefundenen Impulse umgerechnet. Laufmittel: n-Butanol: Pyridin: Wasser (V/V) (1 : 1 : 1).

Peak auf der DC-Platte	Referenz-Substanz	Duodenum		Jejunum		Ileum	
		Resorbat	Gewebe	Resorbat	Gewebe	Resorbat	Gewebe
Folsäure	99,4	99,6	99,4	98,9	97,7	99,1	n.g.
Metabolit(e)	-	-	-	-	-	-	n.g.
Applikations-Fleck	0,08	0,1	0,04	0,06	1,2	0,09	n.g.

n.g.=nicht gemessen

Tab. II

Transfer und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Gewebe an evertierten und nicht evertierten Duodenum-, Jejunum-, Ileum- und Colonsegmenten.

Methode: Wilson und Wiseman (88) - Versuchsdauer: 120 min - Temperatur: 37°C.
^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn entweder der Außenlösung (M → S) oder der Innenlösung (S → M) zugegeben. Die Glucosekonzentration betrug zu Versuchsbeginn auf beiden Seiten des Darmpräparates 15,1 µmol/ml.
Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 6 - 9 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$).

^{3}H- Fols. Konz. (mol/l)	Vol.d. Serosafl.d. (ml)	Feuchtg. Darmgew. (g)	Därm- länge (cm)	Gluc-Konz. (Serosafl.) (µmol/ml)	^{3}H-Konz. (Serosafl.) (Ipm/ml)	^{3}H-Menge (Serosafl.) (Ipm/g FG)	^{3}H-Geh. d.Darmgew. (Ipm/g FG)
M → S (evertiertes Duodenum)							
2×10^{-9}	0,8 ±0,04	0,53 ±0,03	5,46 ±0,20	26,97 ±1,92	15.713 ±1.368	23.953 ±2.949	97.002 ±11.506
M → S (evertiertes Jejunum)							
2×10^{-9}	0,7 ±0,01	0,24 ±0,01	5,2 ±0,10	27,85 ±1,01	18.099 ±723	51.203 ±2.452	147.401 ±8.564
M → S (evertiertes Ileum)							
2×10^{-9}	0,8 ±0,03	0,26 ±0,01	5,1 ±0,06	12,79 ±0,78	12.148 ±639	32.437 ±1.475	44.948 ±6.885
M → S (evertiertes Colon)							
2×10^{-9}	0,6 ±0,02	0,99 ±0,04	5,4 ±0,14	4,19 ±0,23	3.193 ±115	1.805 ±110	8.622 ±1.255

Tab. II (Forts.)

^{3}H- Fols. Konz. (mol/l)	Vol.d. Serosafl.d. (ml)	Feuchtg. Darmgew. (g)	Darm-länge (cm)	Gluc-Konz. (Serosafl.) (µmol/ml)	^{3}H-Konz. (Serosafl.) (Ipm/ml)	^{3}H-Menge (Serosafl.) (Ipm/g FG)	^{3}H-Geh. d.Darmgew. (Ipm/g FG)
S → M (nicht evertiertes Duodenum)							
2×10^{-9}	0,5	0,53	4,7	./.	2.056	1.814	83.876
	±0,02	±0,02	±0,14	./.	±190	±140	±5.472
S → M (nicht evertiertes Jejunum)							
2×10^{-9}	0,3	0,37	5,0	./.	17.465	15.255	74.039
	±0,02	±0,02	±0,10	./.	±878	±591	±5.237
S → M (nicht evertiertes Ileum)							
2×10^{-9}	0,5	0,35	4,2	./.	10.381	14.331	101.063
	±0,06	±0,02	±0,16	./.	453	±1.764	±15.486
S → M (nicht evertiertes Colon)							
2×10^{-9}	0,6	0,45	3,36	./.	2.686	3.378	89.074
	±0,01	±0,03	±0,17	./.	±378	±431	±5.449

Tab. III

Transfer und Gehalt von ^{3}H- Folsäure an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Duodenum-, Jejunum- und Ileumsegmenten - Konzentrationsabhängigkeit

Methode: Fisher u. Parsons (28), modifiziert durch Rummel u. Stupp (74) - Perfusionsdauer: 120 min - Temperatur: 37°C.

^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn der Perfusionslösung in einer Konzentration von 2×10^{-9} mol/l (≙ 42200 Ipm/ml) zugegeben. Die Glucosekonzentration betrug zu Versuchsbeginn in der Perfusionslösung 15,1 µmol/ml.

Am Versuchsende wurde die ^{3}H- Aktivität im Resorbat und die des Darmgewebes bestimmt.

Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 6 - 22 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$).

Duodenum

^{3}H-Fols. Konz.	Volumen der Serosafl.	Feuchtg. des Darmgew.	Glucose-Konz.i.d. Serosafl.	^{3}H-Konz. in der Serosafl.	^{3}H-Menge in der Serosalf.		^{3}H-Gehalt des Darmgew.	
(mol/l)	(ml)	(g)	(µmol/ml)	(Ipm/ml)	(Ipm/g FG)	(% d. Ang.)	(Ipm/g FG)	(% d. Ang.)
2×10^{-9}	0,7	0,48	27,10	18.380	38.232	1,81	49.077	2,32
	±0,10	±0,02	±2,81	±202	±7.144	±0,34	±4.392	±0,21
5×10^{-7}	1,2	1,11	29,86	14.572	13.899	0,67	29.453	1,41
	±0,16	±0,04	±3,46	±1.187	±1.856	±0,10	±3.454	±0,16
1×10^{-6}	0,7	0,60	31,16	6.947	8.793	0,42	16.851	0,80
	±0,06	±0,03	±3,00	±1.387	±2.267	±0,11	±811	±0,04
1×10^{-5}	1,3	0,70	30,98	4.635	7.726	0,37	9.323	0,43
	±0,13	±0,03	±2,21	±336	±1.022	±0,05	±535	±0,02
1×10^{-3}	0,8	0,8	30,08	6.915	6.561	0,32	15.483	0,73
		±0,05	±3,60	±1.058	±1.283	±0,06	±835	±0,04

Tab. II (Forts.)

^{3}H- Fols. Konz. (mol/l)	Vol.d. Serosafl. (ml)	Feuchtg. d.Darmgew. (g)	Darm-länge (cm)	Gluc-Konz. (Serosafl.) (µmol/ml)	^{3}H-Konz. (Serosafl.) (Ipm/ml)	^{3}H-Menge (Serosafl.) (Ipm/g FG)	^{3}H-Geh. d.Darmgew. (Ipm/g FG)
S → M (nicht evertiertes Duodenum)							
2×10^{-9}	0,5 ±0,02	0,53 ±0,02	4,7 ±0,14	./. ./.	2.056 ±190	1.814 ±140	83.876 ±5.472
S → M (nicht evertiertes Jejunum)							
2×10^{-9}	0,3 ±0,02	0,37 ±0,02	5,0 ±0,10	./. ./.	17.465 ±878	15.255 ±591	74.039 ±5.237
S → M (nicht evertiertes Ileum)							
2×10^{-9}	0,5 ±0,06	0,35 ±0,02	4,2 ±0,16	./. ./.	10.381 453	14.331 ±1.764	101.063 ±15.486
S → M (nicht evertiertes Colon)							
2×10^{-9}	0,6 ±0,01	0,45 ±0,03	3,36 ±0,17	./. ./.	2.686 ±378	3.378 ±431	89.074 ±5.449

Tab. III

Transfer und Gehalt von ^{3}H- Folsäure an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Duodenum-, Jejunum- und Ileumsegmenten - Konzentrationsabhängigkeit

Methode: Fisher u. Parsons (28), modifiziert durch Rummel u. Stupp (74) - Perfusionsdauer: 120 min - Temperatur: 37°C.

^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn der Perfusionslösung in einer Konzentration von 2×10^{-9} mol/l (≙ 42200 Ipm/ml) zugegeben. Die Glucosekonzentration betrug zu Versuchsbeginn in der Perfusionslösung 15,1 µmol/ml.

Am Versuchsende wurde die ^{3}H- Aktivität im Resorbat und die des Darmgewebes bestimmt. Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 6 - 22 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$).

Duodenum

^{3}H-Fols. Konz.	Volumen der Serosafl.	Feuchtg. des Darmgew.	Glucose-Konz.i.d. Serosafl.	^{3}H-Konz. in der Serosafl.	^{3}H-Menge in der Serosalf.		^{3}H-Gehalt des Darmgew.	
(mol/l)	(ml)	(g)	(µmol/ml)	(Ipm/ml)	(Ipm/g FG)	(% d. Ang.)	(Ipm/g FG)	(% d. Ang.)
2×10^{-9}	0,7	0,48	27,10	18.380	38.232	1,81	49.077	2,32
	±0,10	±0,02	±2,81	±202	±7.144	±0,34	±4.392	±0,21
5×10^{-7}	1,2	1,11	29,86	14.572	13.899	0,67	29.453	1,41
	±0,16	±0,04	±3,46	±1.187	±1.856	±0,10	±3.454	±0,16
1×10^{-6}	0,7	0,60	31,16	6.947	8.793	0,42	16.851	0,80
	±0,06	±0,03	±3,00	±1.387	±2.267	±0,11	±811	±0,04
1×10^{-5}	1,3	0,70	30,98	4.635	7.726	0,37	9.323	0,43
	±0,13	±0,03	±2,21	±336	±1.022	±0,05	±535	±0,02
1×10^{-3}	0,8	0,8	30,08	6.915	6.561	0,32	15.483	0,73
		±0,05	±3,60	±1.058	±1.283	±0,06	±835	±0,04

Tab. III (Forts.)

Jejunum

^{3}H-Fols. Konz.	Volumen der Serosafl.	Feuchtg. des Darmgew.	Glucose-Konz.i.d. Serosafl.	^{3}H-Konz. in der Serosafl.	^{3}H-Menge in der Serosalf.		^{3}H-Gehalt des Darmgew.	
(mol/l)	(ml)	(g)	(µmol/ml)	(Ipm/ml)	(Ipm/g FG)	(% d. Ang.)	(Ipm/g FG)	(% d. Ang.)
2×10^{-9}	2,8	1,34	30,04	60.704	134.238	4,32	84.350	4,04
	±0,32	±0,05	±2,57	±5.176	±24.492	±1,15	±5.688	±0,28
5×10^{-7}	1,6	0,71	45,37	19.856	44.074	2,10	30.946	1,47
	±0,17	±0,04	±3,66	±1.336	±5.592	±0,27	±1.932	±0,10
1×10^{-6}	1,9	0,94	41,42	19.370	34.851	1,77	34.930	1,65
	±0,14	±0,04	±3,41	±2.750	±4.470	±0,21	±1.798	±0,09
1×10^{-5}	1,6	0,79	32,97	12.706	26.923	0,78	21.176	1,01
	±0,2	±0,06	±4,71	±2.220	±11.485	±0,19	±1.418	±0,07
1×10^{-4}	1,3	0,71	34,15	10.387	16.066	0,71	20.810	0,99
	±0,16	±0,05	±4,34	±2.372	±978	±0,04	±2.505	±0,12
1×10^{-3}	1,6	0,59	49,97	3.405	8.830	0,42	43.631	2,07
	±0,23	±0,04	±2,64	±236	±1.492	±0,07	±2.187	±0,10

Tab. III (Forts.)

Ileum

^{3}H-Fols. Konz.	Volumen der Serosafl.	Feuchtg. des Darmgew.	Glucose-Konz.i.d. Serosafl.	^{3}H-Konz. in der Serosafl.	^{3}H-Menge in der Serosalf.		^{3}H-Gehalt des Darmgew.	
(mol/l)	(ml)	(g)	(µmol/ml)	(Ipm/ml)	(Ipm/g FG)	(% d. Ang.)	(Ipm/g FG)	(% d. Ang.)
2×10^{-9}	1,3 ±0,19	0,82 ±0,05	21,56 ±1,66	7.643 ±1.119	12.177 ±2.639	0,57 ±0,13	22.364 ±1.078	1,06 ±0,05
5×10^{-7}	1,3 ±0,13	0,67 ±0,04	8,07 ±1,94	2.943 ±391	6.329 ±1.223	0,30 ±0,06	8.155 ±481	0,37 ±0,02
1×10^{-6}	1,5 ±0,14	0,90 ±0,10	22,98 ±3,06	4.652 ±579	8.561 ±1.748	0,40 ±0,08	21.490 ±1.727	1,02 ±0,08
1×10^{-5}	1,9 ±0,14	0,78 ±0,04	6,09 ±0,86	2.219 ±110	5.685 ±564	0,27 ±0,03	6.687 ±652	0,32 ±0,03
1×10^{-4}	1,4 ±0,15	0,97 ±0,43	25,55 ±3,96	3.123 ±110	4.543 ±283	0,22 ±0,01	19.189 ±914	0,91 ±0,04

Tab. IV

Transfer und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Gewebe an evertierten und nicht evertierten Jejunumsegmenten - Konzentrationsabhängigkeit

Methode: Wilson u. Wiseman (88) - Versuchsdauer: 120 min - Temperatur: 37°C.
^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn entweder der Außenlösung (M → S) oder der Innenlösung (S → M) zugegeben. Die Glucosekonzentration betrug zu Versuchsbeginn auf beiden Seiten des Darmpräparates 15,1 µmol/ml.
Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 6 - 8 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$).

M → S (evertiertes Jejunum)

^{3}H- Fols. Konz.	Volumen d. Serosafl	Feuchtgew. d.Darmgew.	Darm-länge	Gluc-Konz. (Serosafl.)	^{3}H-Konz. (Serosafl.)	^{3}H-Menge (Serosafl.)		^{3}H-Gehalt d.Darmgew.	
(mol/l)	(ml)	(g)	(cm)	(µmol/ml)	(Ipm/ml)	(Ipm/g FG)	(%)	(Ipm/g FG)	(%)
2×10^{-9}	0,7 ±0,01	0,24 ±0,01	5,4 ±0,10	27,85 ±1,01	18.089 ±1.723	95.588 ±1.940	22,64 ±2,06	147.524 ±3.080	34,94 ±2,09
5×10^{-7}	0,7 ±0,02	0,18 ±0,02	4,9 ±0,12	29,89 ±1,16	21.333 ±649	82.467 ±7.693	19,46 ±1,67	30.365 ±4.138	7,19 ±0,98
1×10^{-6}	0,7 ±0,01	0,16 ±0,01	4,7 ±0,15	26,78 ±0,24	17.708 ±884	74.430 ±5.975	17,57 ±1,27	22.200 ±1.278	5,26 ±1.278
1×10^{-5}	0,7 ±0,02	0,21 ±0,02	5,2 ±0,28	23,49 ±2,81	15.508 ±2.972	58.979 ±15.756	13,83 ±3,69	13.245 ±1.299	3,13 ±0,31
1×10^{-4}	0,7 ±0,02	0,24 ±0,01	5,4 ±0,14	29,63 ±0,92	5.873 ±398	24.699 ±2.355	5,84 ±0,54	6.972 ±605	1,65 ±0,14

Tab. IV (Forts.)

S → M (nicht evertiertes Jejunum)

^{3}H- Konz. (mol/l)	Fols. Volumen d. Serosafl (ml)	Feuchtgew. d.Darmgew. (g)	Darm-länge (cm)	Gluc-Konz. (Serosafl.) (µmol/ml)	^{3}H-Konz. (Serosafl.) (Ipm/ml)	^{3}H-Menge (Serosafl.) (Ipm/g FG)	(%)	^{3}H-Gehalt d.Darmgew. (Ipm/g FG)	(%)
2×10^{-9}	0,3 ±0,02	0,37 ±0,02	5,0 ±0,01		17.465 ±878	15.255 ±591	3,71 ±0,19		18,23 ±1,14
5×10^{-7}	0,3 ±0,03	0,29 ±0,02	4,5 ±0,01		5.254 ±602	5.099 ±491	1,19 ±0,10	12.551 ±826	2,97 ±0,2
1×10^{-5}	0,4 ±0,01	0,34 ±0,02	5,5 ±0,31		12.969 ±2.408	15.590 ±3.515	3,70 ±0,84	11.951 ±898	2,83 ±0,22
1×10^{-4}	0,6 ±0,02	0,36 ±0,02	5,2 ±0,15		5.542 ±1.372	9.700 ±1.969	2,28 ±0,45	8.808 ±401	2,09 ±0,1

Tab. V

Transfer von ^{3}H- Folsäure durch die Darmwand an evertierten Jejunumsegmenten - Konzentrationsabhängigkeit.

Methode: Wilson u. Wiseman (88) - Versuchsdauer: 120 min - Temperatur: 37°C.
^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn der Außenlösung (M → S) in einer Konzentration von 2×10^{-9} mol/l (≙ 42200 Ipm/ml) zugegeben. Die Glucosekonzentration betrug zu Versuchsbeginn 15,1 µmol/ml.
Am Versuchsende wurde ^{3}H- Radioaktivität pro cm u. min bestimmt und in molare Dimensionen umgerechnet.
Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 5 - 8 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$).
M → S (evertiertes Jejunum)

^{3}H- Fols. Konz. [S] (mol/l)	Vol.d. Serosafl. (ml)	Feuchtg. d.Darmgew. (g)	Darm-länge (cm)	^{3}H-Konz. (Serosafl.) (Ipm/ml)	Transport-geschw. (v) (Ipm/cm u. min)		[S]/v (mol/cm u. min)
1×10^{-6}	0,7 ±0,03	0,25 ±0,02	4,9 ±0,09	17.691 ±985	2.378	$4,7 \times 10^{-10}$ $\pm 2,8 \times 10^{-11}$	$2,13 \times 10^{3}$
$2,5 \times 10^{-6}$	0,7 ±0,02	0,23 ±0,02	4,8 ±0,07	15.313 ±995	2.171	$1,07 \times 10^{-9}$ $\pm 7,3 \times 10^{-11}$	$2,34 \times 10^{3}$
$7,5 \times 10^{-6}$	0,7 ±0,02	0,21 ±0,02	4,6 ±0,12	15.874 ±1.373	2.234 ±188	$3,31 \times 10^{-9}$ $\pm 2,8 \times 10^{-10}$	$2,27 \times 10^{3}$
$2,5 \times 10^{-5}$	0,6 ±0,03	0,22 ±0,02	4,6 ±0,14	16.402 ±1.797	2.230 ±245	$1,1 \times 10^{-8}$ $\pm 1,2 \times 10^{-9}$	$2,27 \times 10^{3}$
5×10^{-5}	0,7 ±0,01	0,24 ±0,01	5,1 ±0,15	11.180 ±986	1.596 ±137	$1,6 \times 10^{-8}$ $\pm 1,4 \times 10^{-9}$	$3,16 \times 10^{-3}$
1×10^{-4}	0,7 ±0,03	0,18 ±0,03	4,8 ±0,2	15.678 ±1.974	2.237 ±336	$2,16 \times 10^{-8}$ $\pm 1,7 \times 10^{-9}$	$4,63 \times 10^{3}$

Tab. VI

Transfer und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Gewebe an evertierten Duodenum-, Jejunum- und Ileumsegmenten - Zeitabhängigkeit.

Methode: Wilson u. Wiseman (88) - Temperatur: 37°C.

^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn der Außenlösung (M → S) in einer Konzentration von 2×10^{-9} mol/l (≙ 42200 Ipm/ml) zugegeben.

Die Glucosekonzentration betrug zu Versuchsbeginn 15,1 µmol/ml. Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 6 - 8 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$).

M → S (evertiertes Duodenum)

Inkubationszeit	Volumen der Serosafl.	Feuchtgew. Darmgew.	Glucose-Konz. in der Serosafl.	^{3}H-Konz. in der Serosafl.	^{3}H-Menge in der Serosafl.	^{3}H-Gehalt des Darmgew.
(min)	(ml)	(g)	(µmol/ml)	(Ipm/ml)	(Ipm/g FG)	(Ipm/g FG)
2	0,7 ±0,04	0,36 ±0,03	13,69 ±0,22	763 ±106	4.999 ±337	389 ±29
6	0,7 ±0,05	0,39 ±0,02	14,33 ±0,65	2.008 ±241	10.399 ±1.750	1.010 ±70
15	0,7 ±0,01	0,42 ±0,01	14,27 ±0,78	4.240 ±195	17.432 ±1.745	2.542 ±110
30	0,7 ±0,01	0,44 ±0,03	16,04 ±0,58	6.930 ±428	30.552 ±1.986	4.097 ±128
60	0,7 ±0,02	0,46 ±0,01	21,07 ±1,02	11.915 ±918	52.759 ±3.047	7.066 ±375
120	0,8 ±0,04	0,53 ±0,03	26,97 ±1,92	23.953 ±2.949	97.002 ±11.506	15.713 ±1.368

Tab. VI (Forts.)

Inkubationszeit	Volumen der Serosafl.	Feuchtgew. Darmgew.	Glucose-Konz. in der Serosafl.	^{3}H-Konz. in der Serosafl.	^{3}H-Menge in der Serosafl.	^{3}H-Gehalt des Darmgew.
(min)	(ml)	(g)	(µmol/ml)	(Ipm/ml)	(Ipm/g FG)	(Ipm/g FG)
M → S (evertiertes Jejunum)						
2	0,7 ±0,01	0,25 ±0,01	13,48 ±0,19	957 ±82	8.008 ±850	328 ±23
6	0,8 ±0,01	0,22 ±0,04	12,54 ±0,77	6.038 ±538	17.136	1.754 ±203
15	0,7 ±0,05	0,30 ±0,05	14,32 ±0,60	5.697 ±1.049	32.887 ±2.349	2.051 ±23
30	0,7 ±0,01	0,27 ±0,01	17,48 ±0,63	11.433 ±764	49.694 ±1.729	4.120 ±192
60	0,7 ±0,03	0,22 ±0,01	22,52 ±1,22	29.938 ±2.435	95.308 ±8.282	10.143 ±1.204
120	0,7 ±0,01	0,24 ±0,01	27,85 ±1,01	51.203 ±2.452	147.401 ±8.564	18.099 ±723
M → S (evertiertes Ileum)						
2	0,7 ±0,01	0,24 ±0,01	13,50 ±0,21	1.588 ±182	4.642 ±361	531 ±44
6	0,7 ±0,03	0,23 ±0,02	12,84 ±0,39	4.077 ±435	7.262 ±917	1.277 ±81

Tab. VI (Forts.)

Inkubationszeit	Volumen der Serosafl.	Feuchtgew. Darmgew.	Glucose-Konz. in der Serosafl.	^{3}H-Konz. in der Serosafl.	^{3}H-Menge in der Serosafl.	^{3}H-Gehalt des Darmgew.
(min)	(ml)	(g)	(µmol/ml)	(Ipm/ml)	(Ipm/g FG)	(Ipm/g FG)
M → S (evertiertes Ileum)						
15	0,7 ±0,10	0,26 ±0,02	12,25 ±0,22	7.393 ±633	12.437 ±1.363	2.880 ±125
30	0,7 ±0,01	0,23 ±0,01	13,74 ±0,43	11.682 ±1.743	20.894 ±5.110	3.654 ±397
60	0,8 ±0,03	0,28 ±0,02	12,65 ±1,69	9.166 ±855	37.165 ±5.195	3.194 ±264
120	0,8 ±0,03	0,26 ±0,01	12,79 ±0,78	32.437 ±1.475	44.948 ±6.885	12.148 ±639

Transfer und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Gewebe an evertierten und nicht evertierten Jejunumsegmenten - Temperaturabhängigkeit.

Methode: Wilson u. Wiseman (88) - Versuchsdauer: 120 min

^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn entweder der Außenlösung (M - S) oder der Innenlösung (S - M) in einer Konzentration von 2×10^{-9} mol/l (= 42200 Ipm/ml) zugegeben.

Die Glucosekonzentration betrug zu Versuchsbeginn 15,1 µmol/ml.

Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 6 - 8 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$).

M → S (evertiertes Jejunum)

Inkubations-temperatur	Volumen d. Serosafl.	Feuchtgew. d.Darmgew.	Glucose-Konz. (Serosafl.)	^{3}H-Konz. (Serosafl.)		^{3}H-Menge (Serosafl.) d. Darmgewebes		^{3}H-Gehalt
(°C)	(ml)	(g)	(µmol/ml)	(Ipm/ml)	(Ipm/g FG)	(log Ipm/g FG)	(Ipm/gFG)	(log Ipm/g FG)
37°C	0,7 ±0,01	0,24 ±0,01	27,85 ±1,01	18.099 ±723	51.203 ±2.452	4,71	147.401 ±8.564	5,17
25°C	0,7 ±0,02	0,25 ±0,01	20,80 ±0,70	16.755 ±1.549	48.582 ±3.483	4,69	119.139 ±11.468	5,08
15°C	0,6 ±0,03	0,20 ±0,02	12,81 ±0,18	10.700 ±288	36.727 ±3.134	4,56	113,947 ±8.915	5,06
7°C	0,7 ±0,01	0,27 ±0,02	14,46 ±0,43	6.542 ±518	18.228 ±1.948	4,26	47.718 ±1.789	4,68

Tab. VII (Forts.)

S → M (nicht evertiertes Jejunum)

Inkubations-temperatur	Volumen d. Serosafl.	Feuchtgew. d.Darmgew.	Glucose-Konz. (Serosafl.)	^{3}H-Konz. (Serosafl.)		^{3}H-Menge (Serosafl.) d. Darmgewebes		^{3}H-Gehalt
(°C)	(ml)	(g)	(µmol/ml)	(Ipm/ml)	(Ipm/g FG)	(log Ipm/g FG)	(Ipm/gFG)	(log Ipm/g FG)
37°C	0,3 ±0,02	0,37 ±0,02	./. ./.	17.465 ±878	15.255 ±591	4,18	74.039 ±5.237	4,87
25°C	0,4 ±0,02	0,39 ±0,02	0,40 ±0,14	7.548 ±390	8.411 ±785	3,92	69.266 ±4.203	4,84
15°C	0,5 ±0,03	0,34 ±0,02	11,89 ±0,30	6.882 ±403	9.379 ±1.009	3,97	60.305 ±4.582	4,78
7°C	0,6 ±0.02	0,33 ±0,02	12,94 ±0,28	3.752 ±384	7.000 ±1.082	3,85	66.631 ±8.996	4,82

Tab. VIII

Netto-Verschiebung von ^{3}H- Folsäure im Konzentrations-Gleichgewicht an evertierten Jejunumsegmenten - Temperaturabhängigkeit

Methode: Wilson u. Wiseman (88) - Versuchsdauer: 120 min.

^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn der Außen- und Innenlösung in einer Konzentration von 2 x 10^{-9} mol/l ($\hat{=}$ 42200 Ipm/ml) zugegeben. Die Glucosekonzentration betrug zu Versuchsbeginn auf beiden Seiten 15,1 µmol/ml.

Am Versuchsende wurde die ^{3}H- Aktivität in der Serosa- und Mucosaflüssigkeit und die des Darmgewebes gemessen.

Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 8 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$).

Jejunum

Inkubations-temperatur	Volumen d. Serosafl.	Feuchtgew. d.Darmgew.	Gluc.-Konz. (Serosafl.)	^{3}H-Konz. (Serosafl.)	^{3}H-Konz. (Mucosafl.)	^{3}H-Gehalt d.Darmgew.
(^{o}C)	(ml)	(g)	(µmol/ml)	(Ipm/ml)	(Ipm/ml)	(Ipm/g FG)
37	0,7	0,22	46,30	34.120	42.602	127.665
	±0,02	±0,01	±1,70	±1.260	±415	±6.783
7	0,7	0,24	14,79	35.699	40.470	54.470
	±0,01	±0,01	±0,42	±563	±452	±4.048

Tab. IX

Tranfer und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Gewebe an evertierten und nicht evertierten Jejunumsegmenten in Gegenwart von Salazosulfapyridin.

Methode: Wilson u. Wiseman (88) - Versuchsdauer 120 min - Temperatur: 37°C.
^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn entweder der Außenlösung (M → S) oder der Innenlösung (S → M) in einer Konzentration von 2 x 10^{-9} mol/l (≙ 42200 Ipm/ml) zusammen mit Salazosulfapyridin zugegeben. Salazosulfapyridin-Konzentrationen: 2,5 ml/l (≙ 6,3 x 10^{-6} mol/l) - 25,0 mg/l (≙ 6,3 x 10^{-5} mol/l) - 250,0 mg/l (≙ 6,3 x 10^{-4} mol/l).
Die Glucosekonzentration betrug zu Versuchsbeginn auf beiden Seiten 15,1 µmol/ml.
Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 7 - 8 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$).

M → S (evertiertes Jejunum)

	Vol.d. Serosafl.	Feuchtg d.Darmgew.	Gluc-Konz. (Serosafl)	^{3}H-Konz (Serosafl.)	^{3}H-Menge (Serosafl.)	^{3}H-Gehalt d. Darmgew.
	(ml)	(g)	(µmol/ml)	(Ipm/ml)	(Ipm/g FG)	(Ipm/g FG)
Kontrolle	0,7 ±0,02	0,26 ±0,02	31,54 ±2,18	11.344 ±1.118	32.217 ±2.427	121.749 ±9.015
2,5 mg/l Salazosulfapyridin	0,7 ±0,02	0,23 ±0,01	31,76 ±0,56	11.078 ±1.008	34.603 ±2.565	98.764 ±14.855
Kontrolle	0,8 ±0,03	0,28 ±0,01	29,17 ±1,11	28.488 ±2.026	76.204 ±4.630	173.215 ±8.122
25,0 ml/l Salazosulfapyridin	0,7 ±0,02	0,27 ±0,01	34,69 ±0,59	20.389 ±1.333	54.502 ±2.909	127.163 ±4.899
Kontrolle	0,7 ±0,05	0,22 ±0,03	25,16 ±1,06	30.012 ±4.477	80.756 ±14.442	238.166 ±27.020
250,0 mg/l Salazosulfapyridin	0,7 ±0,05	0,22 ±0,02	25,24 ±0,50	14.390 ±1.833	43.429 ±7.547	170.538 ±22.871

Tab. IX (Forts.)

	Vol.d. Serosafl. (ml)	Feuchtg d.Darmgew. (g)	Gluc-Konz. (Serosafl) (µmol/ml)	^{3}H-Konz (Serosafl.) (Ipm/ml)	^{3}H-Menge (Serosafl.) (Ipm/g FG)	^{3}H-Gehalt d. Darmgew. (Ipm/g FG)
S → M (nicht evertiertes Jejunum)						
Kontrolle	0,4 ±0,02	0,38 ±0,02		2.406 ±408	2.962 ±388	80.983 ±3.092
2,5 mg/l Salazosulfapyridin	0,4 ±0,02	0,42 ±0,02		3.062 ±240	2.959 ±270	82.021 ±6.542
Kontrolle	0,43 ±0,04	0,36 ±0,03		1.995 ±170	2.294 ±132	76.815 ±10.092
25,0mg/l Salazosulfapyridin	0,43 ±0,02	0,31 ±0,01		2.468 ±233	3.318 ±266	106.519 ±4.838
Kontrolle	0,41 ±0,04	0,38 ±0,02		4.202 ±726	5.062 ±1.374	90.313 ±6.572
250,0mg/l Salazosulfapyridin	0,36 ±0,03	0,41 ±0,02		6.951 ±1.091	6.360 ±1.090	91.452 ±7.529

Tab. IX (Forts.)

	Vol.d. Serosafl. (ml)	Feuchtg d.Darmgew. (g)	Gluc-Konz. (Serosafl) (µmol/ml)	^{3}H-Konz (Serosafl.) (Ipm/ml)	^{3}H-Menge (Serosafl.) (Ipm/g FG)	^{3}H-Gehalt d. Darmgew. (Ipm/g FG)
M → S(evertiertes Colon)						
Kontrolle	0,6 ±0,06	0,92 ±0,10	4,18 ±0,69	3.203 ±447	1.866 ±351	11.392 ±3.440
250mg/l Salazosulfapyridin	0,6 ±0,03	0,93 ±0,06	3,70 ±0,28	3.890 ±208	2.671 ±265	14.494 ±2.176
S → M (nicht evertiertes Colon)						
Kontrolle	0,6 ±0,03	0,62 ±0,03	6,63 ±0,28	2.131 ±141	2.193 ±148	73.121 ±5.942
250mg/l Salazosulfapyridin	0,5 ±0,02	0,62 ±0,02	9,61 ±0,80	3.154 ±109	2.766 ±191	108.705 ±5.937

Netto-Verschiebung von ^{3}H- Folsäure im Konzentrations-Gleichgewicht an evertierten Jejunumsegmenten in Gegenwart von Salazosulfapyridin.

Methode: Wilson u. Wiseman (88) - Versuchsdauer: 120 min - Temperatur: 37°C.
^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn der Außen- und Innenlösung in einer Konzentration von 2 x 10^{-9}mol/l (≙ 42200 Ipm/ml) zugegeben. Die Glucosekonzentration betrug zu Versuchsbeginn auf beiden Seiten 15,1 µmol/ml. Am Versuchsende wurde die ^{3}H-Radioaktivität in der Serosa- und Mucosaflüssigkeit und die des Darmgewebes gemessen.
Salazosulfapyridin-Konzentrationen: 2,5 mg/l (≙ 6,3 x 10^{-6}mol/l) - 25,0 mg/l (≙ 6,3 x 10^{-5}mol/l) - 250,0 mg/l (≙ 6,3 x 10^{-4}mol/l).
Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 7 - 8 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$).

Jejunum

^{3}H- Fols. Konz. (mol/l)	Volumen d. Serosafl. (ml)	Feuchtgew. d. Darmgew. (g)	Gluc.-Konz. (Serosafl.) (µmol/ml)	^{3}H-Konz. (Serosafl.) (Ipm/ml)	^{3}H-Konz. (Mucosafl.) (Ipm/ml)	^{3}H-Gehalt d.Darmgew. (Ipm/g FG)
Kontrolle	0,74 ±0,01	0,24 ±0,01	34,61 ±0,59	25.513 ±1.740	38.054 ±868	183.606 ±9.272
2,5 mg/l Salazosulfapyridin	0,70 ±0,01	0,33 ±0,09	28,40 ±1,22	22.799 ±1.390	38.623 ±729	195.888 ±11.413
Kontrolle	0,69 ±0,01	0,23 ±0,01	29,03 ±0,99	27.573 ±2.030	35.968 ±473	213.472 ±9.244
25,0 mg/l Salazosulfapyridin	0,67 ±0,02	0,21 ±0,01	25,75 ±0,91	25.308 ±964	39.501 ±366	183.365 ±5.959
Kontrolle	0,75 ±0,02	0,27 ±0,02	35,28 ±2,04	29.895 ±1.550	34.256 ±620	168.849 ±10.875
250 mg/l Salazosulfapyridin	0,77 ±0,02	0,32 ±0,02	33,59 ±0,94	19.538 ±436	36.137 ±203	142.061 ±15.154

Tab. X (Forts.)
Colon

^{3}H- Fols. Konz. (mol/l)	Volumen d. Serosafl. (ml)	Feuchtgew. d. Darmgew. (g)	Gluc.-Konz. (Serosafl.) (µmol/ml)	^{3}H-Konz. (Serosafl.) (Ipm/ml)	^{3}H-Konz. (Mucosafl.) (Ipm/ml)	^{3}H-Gehalt d.Darmgew. (Ipm/g FG)
Kontrolle	0,6 ±0,02	0,92 ±0,04	3,66 ±0,31	12.449 ±404	44.928 ±277	28.438 ±2.494
250 mg/l Salazosulfapyridin	0,6 ±0,01	0,88 ±0,05	5,55 ±0,20	16.523 ±211	40.425 ±563	37.459 ±2.256

Tab. XI

Transfer und Gehalt von ^{3}H- Folsäure im Gewebe an evertierten und nicht evertierten Jejunum- und Colonsegmenten in Gegenwart von Phenobarbital.

Methode: Wilson u. Wiseman (88); Versuchsdauer: 120 min
^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn entweder der Außenlösung (M → S) oder der Innenlösung (S → M) in einer Konzentration von 2 x 10^{-9}mol/l (≙ 42200 Ipm/ml) zugegeben. Phenobarbital-Konzentration: 10^{-5}mol/l. Die Glucosekonzentration betrug zu Versuchsbeginn auf beiden Seiten 15,1 µmol/ml. Am Versuchsende wurde die ^{3}H-Radioaktivität in der Serosa- und Mucosaflüssigkeit und die des Darmgewebes gemessen. Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 7 - 8 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$).

M → S (evertiertes Jejunum)

	Inkub temp. (°C)	Volumen d. Serosafl. (ml)	Feuchtgew. d.Darmgew. (g)	Gluc.-Konz (Serosafl.) (µmol/ml)	^{3}H- Konz. (Serosafl.) (Ipm/ml)	^{3}H- Menge (Serosafl.) (Ipm/g FG)	^{3}H-Gehalt d.Darmgew. (Ipm/g FG)
Kontrolle	37	0,7 ±0,01	0,24 ±0,01	27,85 ±1,01	18.099 ±723	51.203 ±2.452	147.401 ±85,64
10^{-5}mol/l Phenobarbital	37	0,7 ±0,01	0,24 ±0,01	33,16 ±1,52	13.959 ±1.284	41.019 ±3.579	115.326 ±4.220
Kontrolle	25	0,7 ±0,02	0,25 ±0,01	20,80 ±0,70	16.755 ±1.549	48.582	119.139 11.486
10^{-5}mol/l Phenobarbital	25	0,8 ±0,01	0,27 ±0,03	20,10 ±1,72	15.96 ±1.070	47.400 ±3.278	143.210 ±7.466

Tab. XI (Forts.)

	Inkub temp. (°C)	Volumen d. Serosafl. (ml)	Feuchtgew. d.Darmgew. (g)	Gluc.-Konz (Serosafl.) (µmol/ml)	^{3}H- Konz. (Serosafl.) (Ipm/ml)	^{3}H- Menge (Serosafl.) (Ipm/g FG)	^{3}H-Gehalt d.Darmgew. (Ipm/g FG)
S → M (nicht evertiertes Jejunum)							
Kontrolle	37	0,3 ±0,02	0,37 ±0,02		17.465 ±878	15.255 ±591	74.039 ±5.237
10^{-5}mol/l Phenobarbital	37	0,4 ±0,02	0,40 ±0,01		7.789 ±347	7.416 ±515	64.537 ±3.672
Kontrolle	25	0,4 ±0,02	0,39 ±0,02		7.548 390	8.411 ±785	69.266 ±4.203
10^{-5}mol/l Phenobarbital	25	0,4 ±0,02	0,39 ±0,01		6.536 ±284	7.047 ±674	65.834 ±4.122
Kontrolle	15	0,5 ±0,03	0,34 ±0,02		6.882 ±403	9.379 ±1.039	60.305 ±4.582
10^{-5}mol/l Phenobarbital	15	0,4 ±0,01	0,38 ±0,02		6.073 ±324	7.140 ±588	48.251 ±2.582
Kontrolle	7	0,6 ±0,02	0,33 ±0,02		3.752 ±384	7.000 ±1.082	66.631 ±8.996
10^{-5}mol/l Phenobarbital	7	0,6 ±0,03	0,37 ±0,02		2.737 ±784	4.473 ±725	64.284 ±3.286

Tab. XI (Forts.)

	Inkub temp. (°C)	Volumen d. Serosafl. (ml)	Feuchtgew. d.Darmgew. (g)	Gluc.-Konz (Serosafl.) (µmol/ml)	^{3}H- Konz. (Serosafl.) (Ipm/ml)	^{3}H- Menge (Serosafl.) (Ipm/g FG)	^{3}H-Gehalt d.Darmgew. (Ipm/g FG)
M → S (evertiertes Colon)							
Kontrolle	37	0,55 ±0,02	0,99 ±0,04	4,19 ±0,23	3.193 ±115	1.805 ±110	8.622 ±1.255
10^{-5}mol/l Phenobarbital	37	0,58 ±0,02	0,85 ±0,05	3,71 ±0,22	3.212 ±205	2.231 ±181	7.257 ±793
S → M (nicht evertiertes Colon)							
Kontrolle	37	0,50 ±0,02	0,66 ±0,04	7,20 ±0,48	2.875 ±91	2.212 ±165	60.555 ±5.449
10^{-5}mol/l Phenobarbital	37	0,53 ±0,02	0,58 ±0,04	8,55 ±0,72	3.145 ±223	2.949 ±271	76.795 ±7.979

Tab. XII

Transfer von ^{3}H- Folsäure durch die Darmwand isoliert durchströmter, nicht durchbluteter Jejunumsegmente in Abhängigkeit von der Phenobarbital-Konzentration bei 37°C und 25°C.

Methode: Fisher u. Parsons (28), modifiziert durch Rummel u. Stupp (74)
Versuchsdauer: 120 min
^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn der Perfusionslösung in einer Konzentration von 2 x 10^{-9}mol/l (≙ 42200 Ipm/ml) zugegeben. Die Glucosekonzentration betrug zu Versuchsbeginn 15,1 µmol/ml. Am Versuchsende wurde die ^{3}H- Radioaktivität im Resorbat (Serosaflüssigkeit) gemessen.
Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 4 - 22 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$).

37°C

	Volumen d. Serosafl. (ml)	Darmlänge (cm)	Gluc.-Konz. (Serosafl.) (µmol/ml)	Gluc.-Menge (Serosafl.) (µmol/cm)	^{3}H-Konz. (Serosafl.) (Ipm/ml)	^{3}H-Menge (Serosafl.) (Ipm/cm)	(%)
Kontrolle	2,10 ±0,18	9,80 ±0,29	36,80 ±2,86	7,21 ±0,89	45.680 ±7.934	11.308 ±2.596	0,45 ±0,07
10^{-8} mol/l Phenobarbital	186 ±0,31	9,60 ±0,43	31,29 ±2,48	6,50 ±1,68	29.451 ±2.061	6.042 ±1.435	0,29 ±0,07
10^{-6} mol/l Phenobarbital	1,81 ±0,20	10,45 ±0,34	48,32 ±3,33	7,03 ±0,36	20.176 ±2.180	3.623 ±574	0,22 ±0,03
10^{-5} mol/l Phenobarbital	1,70 ±0,18	9,70 ±0,37	48,37 ±6,94	8,42 ±1,35	45.796 ±2.134	4.162 ±142	0,20 ±0,02
10^{-4} mol/l Phenobarbital	1,80 ±0,15	9,75 ±0,31	53,35 ±3,78	9,68° ±0,6	30.045 ±2.818	5.567 ±681	0,27 ±0,03

37°C

	Volumen d. Serosafl.	Darm-länge	Gluc.-Konz. (Serosafl.)	Gluc.-Menge (Serosafl.)	^{3}H-Konz. (Serosafl.)	^{3}H-Menge (Serosafl.)	
	(ml)	(cm)	(µmol/ml)	(µmol/cm)	(Ipm/ml)	(Ipm/cm)	(%)
10^{-3} mol/l Phenobarbital	1,42 ±0,13	8,83 ±0,17	49,74 ±2,96	7,91 ±0,75	48.227 ±2.580	7.746 ±812	0,28 ±0,03
10^{-2} mol/l Phenobarbital	0,61 ±0,07	9,50 ±0,32	6,85 ±0,6	0,46 ±0,05	7.043 ±1.155	489 ±123	0,025 ±0,005

Tab. XII (Forts.)

25°C

	Volumen d. Serosafl.	Darm-länge	Gluc.-Konz. (Serosafl.)	Gluc.-Menge (Serosafl.)	^{3}H-Konz. (Serosafl.)	^{3}H-Menge (Serosafl.)	
	(ml)	(cm)	(µmol/ml)	(µmol/cm)	(Ipm/ml)	(Ipm/cm)	(%)
Kontrolle	0,71 ±0,1	9,4 ±0,42	43,75 ±2,47	3,13 ±0,42	47.953 ±13.151	3.523 ±487	0,18 ±0,08
10^{-6} mol/l Phenobarbital	0,83 ±0,10	9,00 ±0,22	37,72 ±1,29	3,41 ±0,27	36.913 ±4.065	3.249 ±267	0,16 ±0,01
10^{-5} mol/l Phenobarbital	1,10 ±0,20	10,50 ±0,65	37,57 ±5,87	4,01 ±0,97	28.393 ±2.497	3.076 ±700	0,14 ±0,03
10^{-4} mol/l Phenobarbital	0,96 ±0,07	8,08 ±0,24	41,64 ±1,26	4,96● ±0,45	40.696 ±2.557	4.855 ±518	0,23 ±0,03
10^{-3} mol/l Phenobarbital	0,75 ±0,07	8,83 ±0,36	37,97 ±2,11	3,25 ±0,97	28.549 ±2.986	2.486 ±400	0,12 ±0,02
10^{-2} mol/l Phenobarbital	0,24 ±0,04	9,17 ±0,48	9,91 ±1,15	0,29 ±0,04	13.865 ±2.085	384 ±104	0,018 ±0,005

o p = 0,05 im Vergleich mit der Kontrolle
● p = 0,02 im Vergleich mit der Kontrolle

Tab. XIII

Wasser- und Glucose-Transport an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Duodenum-, Jejunum- und Ileumsegmenten nach chronischer Verabreichung von Phenobarbital und Diphenylhydantoin.

Methode: Fisher u. Parsons (28), modifiziert durch Rummel u. Stupp (74);
Perfusionsdauer: 120 min; Temperatur: 37°C; pH-Wert der Tyrodelösung: 7,15 ± 0,03.

^{3}H- Aktivität wurde zu Versuchsbeginn der Perfusionslösung in einer Konzentration von 2 x 10^{-9}mol/l (≙ 42200 Ipm/ml) zugegeben. Am Versuchsende wurde die Radioaktivität pro ml Serosaflüssigkeit (Resorbat) und die des Dargewebes gemessen.
Die Ratten wurden über einen Zeitraum von 6 Wochen täglich mit 50 mg/kg KG Phenobarbital bzw. 0,5 g/kg KG Diphenylhydantoin in Guar Gum (50 mg/kg KG) vorbehandelt.
Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 6 - 10 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$).

	Volumen d. Serosafl. (ml)	Feuchtgew. d. Darmgew. (g)	Darmlänge (cm)	Gluc.-Konz. (Serosafl.) (µmol/ml)	Gluc.-Menge (Serosafl.) (µmol/cm Darm)
Duodenum					
Guar Gum	0,84 ±0,13	0,95 ±0,07	7,5 ±0,33	38,79 ±4,84	4,30 ±0,70
Phenobarbital	0,93 ±0,14	0,90 ±0,07	6,9 ±0,33	25,59 ±5,36	3,51 ±0,75
Diphenylhydantoin	0,90 ±0,16	0,83 ±0,10	6,9 ±0,15	33,47 ±2,16	4,38 ±0,82

Tab. XIII (Forts.)

	Volumen d. Serosafl. (ml)	Feuchtgew. d. Darmgew. (g)	Darmlänge (cm)	Gluc.-Konz. (Serosafl.) (µmol/ml)	Gluc.-Menge (Serosafl.) (µmol/cm Darm)
Jejunum					
Guar Gum	1,86 ±0,18	0,84 ±0,04	9,4 ±0,38	43,97 ±3,55	8,52 ±0,74
Phenobarbital	1,74 ±0,20	0,97 ±0,08	9,3 ±0,33	46,29 ±4,27	9,06 ±1,82
Diphenylhydantoin	185 ±0,25	0,87 ±0,06	9,7 ±0,44	37,60 ±3,95	7,34 ±1,12
Ileum					
Guar Gum	1,18 ±0,22	1,0 ±0,1	9,1 ±0,67	6,18 ±1,02	0,82 ±0,2
Phenobarbital	1,53 ±0,25	1,1 ±0,1	9,2 ±0,53	8,65 ±0,78	1,45 ±0,25
Diphenylhydantoin	1,45 ±0,23	1,0 ±0,07	9,5 ±0,62	12,29 ±2,61	2,03 ±0,65

Lebenslauf

16.02.1950	geboren in Duisburg-Hamborn Vater : Johann Strugala Mutter : Herta Strugala, geb. Schampanies
1956 - 1964	Volksschule in Duisburg-Hamborn
1964 - 1967	Kaufmännische Lehre
1967 - 1969	Berufsaufbauschule in Mülheim a.d. Ruhr (Abschluß: Mittlere Reife)
1969 - 1972	Westfalen-Kolleg in Paderborn (Abschluß: Abitur)
1972 - 1978	Studium der Fächer Biologie u. Sozialwissenschaften a.d. Ruhr-Universität Bochum (Abschluß: 1. Philologische Staatsprüfung)
1978 - 1980	Doktorarbeit am Institut für Pharmakologie und Toxikologie d. Ruhr-Universität Bochum

DER DRUCKER - (Alte) Buscheystraße 138 - 4630 Bochum-Querenburg